

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

PROGRÈS VERS LA SYNTHÈSE D'ANTIANDROGÈNES « NATURELS » :  
SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION ET ÉVALUATION BIOLOGIQUE  
DE NOUVEAUX DIMÈRES DE LA TESTOSTÉRONE

MÉMOIRE  
PRÉSENTÉ  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE EXTENSIONNÉE DE  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

PAR  
ANNE-ROSE VESPER

AOÛT 2015

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL  
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.07-2011). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

## REMERCIEMENTS

Après trois ans de travail assidu, je peux maintenant affirmer que la thèse est loin d'être un travail solitaire. Je tiens à exprimer toute ma gratitude à l'ensemble des personnes qui auront contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de ces formidables années universitaires.

Je tiens tout d'abord à exprimer mes profonds remerciements à mon directeur de maîtrise, professeur à l'UQTR, monsieur Gervais Bérubé, pour l'aide compétente qu'il m'a apportée, pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'il a consacrées à diriger cette recherche. J'aimerais lui dire à quel point j'ai apprécié sa grande disponibilité, ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa franchise et sa sympathie. J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse ma gratitude pour tout cela.

Je remercie mon codirecteur de recherche, monsieur Heidar-Ali Tajmir-Riahi, pour les études des interactions des dimères sur la  $\beta$ -lactoglobuline, les protéines sériques, l'ARN et l'ADN. Ces études m'ont permis de consolider mes connaissances en spectroscopie et de voir les applications possibles des dimères sur les molécules d'intérêt biologique.

Je tiens à remercier tous les membres du groupe de recherche du professeur Gervais Bérubé qui m'ont aidée à m'adapter au système d'éducation du Québec et qui m'ont permis de passer des moments incroyablement enrichissants sur le plan scientifique ainsi que sur le plan humain avec eux. Merci pour leur support à Nathalie, Julie, Sébastien, Jelena, Gabriel et Suzie. J'ai eu beaucoup de plaisir à

travailler avec vous. J'associe à ces remerciements Jocelyn, Cathia et Catarina pour leur assistance, leur enthousiasme et leur sympathie. J'adresse pareillement de chaleureux remerciements à Simon et Jodrey pour leur attention de tout instant sur mes travaux, pour leurs conseils avisés et leur amitié. J'ai eu beaucoup de plaisir à voyager et étudier avec eux.

Je remercie également mes collègues au travail pour leur soutien moral, ainsi que mes amis qui, de près comme de loin, m'ont épaulée aux moments opportuns.

Enfin, je terminerai par un petit mot pour les personnes qui me sont les plus chères : Merci à Annika et Thorben qui, par leur amour, leur curiosité et leur volonté, m'ont permis d'associer ma passion pour la recherche en même temps que ma vie familiale.



## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS .....	ii
LISTE DES FIGURES .....	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES SPECTRES .....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SYMBOLES ET UNITÉS .....	xiii
RÉSUMÉ .....	xviii
CHAPITRE I	
INTRODUCTION .....	1
1.1 Le cancer de la prostate .....	1
1.2 La prostate .....	2
1.3 Les traitements du cancer utilisés en clinique .....	3
1.3.1 Les traitements utilisés pour un cancer localisé.....	4
1.3.2 Les traitements médicamenteux.....	5
1.3.3 La résistance aux traitements.....	6
1.4 Les androgènes et leur récepteur .....	7
1.4.1 La biosynthèse des androgènes.....	9
1.4.2 La structure et la conformation du récepteur des androgènes (RA). ..	11
1.4.3 L'interaction des androgènes et du récepteur dans la cellule .....	14
1.5 Les antiandrogènes .....	15
1.5.1 L'interaction entre le RA et l'antiandrogène .....	17
1.5.2 Les antiandrogènes utilisés en clinique .....	19
CHAPITRE II	
LES DIMÈRES .....	25
2.1 Les propriétés d'un dimère .....	25
2.2 Les deux types de dimères .....	27

2.2.1 Les dimères naturels .....	27
2.2.2 Les dimères synthétiques.....	31
2.2.3 La synthèse des dimères stéroïdiens .....	35
2.3 Objectifs du projet.....	39
CHAPITRE III	
SYNTHÈSE DES DIMÈRES DE LA TESTOSTÉRONE.....	44
3.1 Synthèse de l'acide <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énique (6) .....	45
3.2 Synthèse des dimères de la testostérone modifiée .....	50
3.2.1 Les dimères à base de connecteurs aliphatiques .....	51
3.2.2 Les dimères à base de connecteurs aromatiques .....	54
3.3 Activité biologique.....	56
CHAPITRE IV	
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	62
CHAPITRE V	
SECTION EXPÉRIMENTALE .....	66
5.1 Remarques générales .....	66
5.2 Synthèse de l'acide <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6) .....	69
5.2.1 Diacétate d'androsta-3,5-diène-3,17 $\beta$ -diol (2) .....	69
5.2.2 Acétate d'androsta-4,6-diène-17 $\beta$ -ol-3-one (3) .....	70
5.2.3 Acétate de 7 $\alpha$ -allyl-androst-4-ène-17 $\beta$ -ol-3-one (4) .....	71
5.2.4 Ester <i>tert</i> -butylique de l'acide <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (5) .....	72
5.2.5 Acide <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6) .....	73
5.3 La synthèse des dimères de testostérone.....	74
5.3.1 La synthèse des dimères avec un connecteur aliphatique.....	74
5.3.2 Synthèse des dimères avec une connexion à base d' <i>ortho</i> -, <i>méta</i> - et <i>para</i> -dihydroxyméthyl benzènes.....	87
APPENDICE A	
SPECTRES RMN- <sup>1</sup> H ET RMN- <sup>13</sup> C .....	97
RÉFÉRENCES .....	129

## LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1.1	L'anatomie de l'organe sexuel de l'homme (modifiée d'Express, 2014).. 3	3
1.2	Vue d'ensemble de la progression du cancer de la prostate et thérapies utilisées (modifiée de Claessens <i>et al.</i> , 2014)..... 4	4
1.3	La représentation de la testostérone par des formules structurales et brute ..... 8	8
1.4	Conversion de la testostérone en dihydrotestotérone par de l'enzyme 5 $\alpha$ -réductase..... 9	9
1.5	Le principe de la régulation physiologique de l'axe gonadotrope chez homme (Vigier, 2006)..... 10	10
1.6	Récepteur des androgènes (modifiée de Gelmann, 2002 et Schindler, 2007)..... 13	13
1.7	Schéma du mécanisme d'action des androgènes de l'interaction à l'activation en passant par l'expression de protéine..... 15	15
1.8	Représentation schématique des régions fonctionnelles du RA (tirée de Singh <i>et al.</i> , 2000)..... 18	18
1.9	Interactions entre la testostérone et le LBD du récepteur (modifiée selon de Groot et Koert, 2006)..... 22	22
2.1	Interactions possibles d'un dimère symétrique sur deux sites de liaison voisins (modifiée de Bérubé, 2006) ..... 26	26
2.2	L'acide torreyanique (tirée de Blagg et Hadden, 2008)..... 28	28
2.3	Les structures monomérique et dimérique de la jesterone ..... 28	28
2.4	Structures de la coumermycine A1 et des dimères analogues (tirée de Blagg et Hadden, 2008) ..... 29	29

2.5	La structure du monomère geldanamycine (GM) (tirée de Blagg et Hadden, 2008) .....	31
2.6	Le structure du dimère de la geldanamycine (modifiée de Blagg et Hadden, 2008) .....	32
2.7	La structure de l'azinomycine B.....	33
2.8	Des exemples des dimères de bisépoxydes inspirés par la structure de l'azinomycine B, avec des connecteurs variés (X) (modifiée de Finerty <i>et al.</i> , 2009 et de LePla <i>et al.</i> , 2005) .....	34
2.9	La forme monomérique et dimérique de l'artémisinine (tirée de Blagg et Hadden, 2008) .....	35
2.10	Le dimère de l'estrone interconnecté par un ester et une chaîne PEG (modifiée de Bérubé, 2006) .....	36
2.11	Le dimère de 17 $\beta$ -estradiol interconnecté par un ester et une chaîne PEG (modifiée de Bérubé, 2006) .....	36
2.12	Dimères de la 7 $\alpha$ -testostérone (tirée de Bastien <i>et al.</i> , 2010) .....	37
2.13	Structure des différents homodimères de la testostérone à préparer au cours de mon projet de recherche .....	39
2.14	Schéma du mécanisme d'action des androgènes avec l'HSP 90 et l'activation du récepteur (voir aussi la figure 1.7) .....	40
2.15	Modèle d'interactions entre un dimère T—T porteur d'une chaîne liante de longueur idéale et le RA.....	40
2.16	Le blocage de l'homodimérisation du RA provoqué par des dimères de T (T—T) liés par une chaîne inhibant l'homodimérisation.....	41
2.17	La formation d'un polymère à l'aide des complexes RA-T—T-RA .....	42
3.1	Structure de la testostérone (1) avec le point d'ancrage en C-7 .....	44
3.2	Schéma de synthèse de l'acide <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6) en cinq étapes (A à E) .....	45
3.3	Synthèse du diacétate d'androsta-3,5-diène-3,17 $\beta$ -diol (2) .....	47
3.4	Synthèse d'androsta-4,6-diène-17 $\beta$ -ol-3-one (3) .....	47
3.5	Synthèse de l'acétate de 7 $\alpha$ -allyl-androst-4-ène-17 $\beta$ -ol-3-one (4) .....	48

3.6	Synthèse de l'ester <i>tert</i> -butylique de l'acide <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (5).....	49
3.7	Synthèse de l'acide <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6) .....	49
3.8	Mécanisme de l'estérification à l'aide du DCC et du catalyseur 4-PPy (modifiée de Steglich et Neises, 1978) .....	50
3.9	La synthèse des dimères à base de connecteurs aliphatiques.....	52
3.10	Schéma réactionnel pour la formation des dimères à base de connecteurs aromatiques .....	54
3.11	Molécules correspondantes au tableau 3.3 .....	58

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
1.1 La demi-vie, le dosage et des effets secondaires des antiandrogènes principaux utilisés en clinique (modifié d'Aus, 2005).....	20
2.1 Activité inhibitrice ( $IC_{50}$ ) sur la dégradation de la protéine de choc thermique HSP 90 de la coumermycine A1 et des analogues <b>1</b> à <b>6</b> .....	30
2.2 Résultats des essais antiprolifératifs (MTT) des isomères <i>trans</i> et <i>cis</i> du dimère de la testostérone et de l'acétate de cyprotérone sur la lignée cellulaire androgéno-dépendante (LNCaP) et androgéno-indépendante (PC3).....	38
3.1 Les signaux caractéristiques des monomères et des dimères synthétisés avec une connexion aliphatique dans du $CDCl_3$ .....	53
3.2 Les signaux caractéristiques des monomères et des dimères synthétisés avec une connexion aromatique dans du $CDCl_3$ .....	55
3.3 Valeurs des $IC_{50}$ ( $\mu M$ ) des diverses molécules testées ( <b>6</b> , CPA, <b>A-1</b> à <b>4</b> et <b>B-1</b> à <b>4</b> ) sur trois lignées cellulaires du cancer de la prostate .....	58
3.4 Valeurs des $IC_{50}$ ( $\mu M$ ) du dimère <b>B-1</b> et du CPA sur sept lignées cellulaires cancéreuses humaines.....	60

## LISTE DES SPECTRES

Spectre	Page
A.1 RMN- <sup>1</sup> H du diacétate d'androsta-3,5-diène-3,17β-diol (2) .....	98
A.2 RMN- <sup>1</sup> H de l'acétate d'androsta-4,6-diène-17β-ol-3-one (3).....	99
A.3 RMN- <sup>1</sup> H de l'acétate de 7α-allyl-androst-4-ène-17β-ol-3-one (4).....	100
A.4 RMN- <sup>1</sup> H de l'ester <i>tert</i> -butylique de l'acide <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (5).....	101
A.5 RMN- <sup>1</sup> H de l'acide <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (6) .....	102
A.6 RMN- <sup>1</sup> H de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de 2-hydroxyéthyle (7) .....	103
A.7 RMN- <sup>1</sup> H du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate d'éthyle (8).....	104
A.8 RMN- <sup>1</sup> H de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de 4-hydroxybutyle (9) .....	105
A.9 RMN- <sup>1</sup> H du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de butyle (10).....	106
A.10 RMN- <sup>1</sup> H de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de 6-hydroxyhexyle (11).....	107
A.11 RMN- <sup>1</sup> H du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate d'hexyle (12) .....	108
A.12 RMN- <sup>1</sup> H de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de 8-hydroxyoctyle (13).....	109



A.13	RMN- <sup>1</sup> H du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate d'octyle (14) .....	110
A.14	RMN- <sup>1</sup> H de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate d' <i>ortho</i> -hydroxyméthyl benzène (15) .....	111
A.15	RMN- <sup>1</sup> H du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate d' <i>ortho</i> -dihydroxyméthyl benzène (16) .....	112
A.16	RMN- <sup>1</sup> H de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate du <i>méta</i> -hydroxyméthyl benzène (17) .....	113
A.17	RMN- <sup>1</sup> H du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate du <i>méta</i> -dihydroxyméthyl benzène (18) .....	114
A.18	RMN- <sup>1</sup> H de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate du <i>para</i> -hydroxyméthyl benzène (19) .....	115
A.19	RMN- <sup>1</sup> H du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate du <i>para</i> -dihydroxyméthyl benzène (20) .....	116
A.20	RMN- <sup>13</sup> C de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de 2-hydroxyéthyle (7) .....	117
A.21	RMN- <sup>13</sup> C du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate d'éthyle (8) .....	118
A.22	RMN- <sup>13</sup> C de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de 4-hydroxybutyle (9) .....	119
A.23	RMN- <sup>13</sup> C du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de butyle (10) .....	120
A.24	RMN- <sup>13</sup> C de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de 6-hydroxyhexyle (11) .....	121
A.25	RMN- <sup>13</sup> C du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate d'hexyle (12) .....	122
A.26	RMN- <sup>13</sup> C de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de 8-hydroxyoctyle (13) .....	123
A.27	RMN- <sup>13</sup> C du dimère de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate d'octyle (14) .....	124



A.28	RMN- <sup>13</sup> C de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate d' <i>ortho</i> -hydroxyméthyl benzène ( <b>15</b> ) .....	125
A.29	RMN- <sup>13</sup> C de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate du <i>méta</i> -hydroxyméthyl benzène ( <b>17</b> ) .....	126
A.30	RMN- <sup>13</sup> C de l'ester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de <i>para</i> -hydroxyméthyl benzène ( <b>19</b> ) .....	127
A.31	RMN- <sup>13</sup> C du dimère de diester <i>trans</i> -4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate du <i>para</i> -dihydroxyméthyl benzène ( <b>20</b> ) .....	128

## LISTE DES ABRÉVIATIONS, SYMBOLES ET UNITÉS

$\delta$	Déplacement chimique en RMN
$\nu$	Bandes d'absorption
4-PPy	4-Pyrrolidinopyridine
ACS	American Cancer Society
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP/ATP3	Adénosine diphosphate/Adénosine triphosphate3
ADT	Traitement par privation androgénique ( <i>androgen deprivation therapy</i> )
ARE	Séquence nucléonique spécifique
Arg	Arginine
Asn	Asparagine
ASP	Antigène spécifique prostatique
B16-F10	Lignée cellulaire d'un cancer de la peau
BT-549	Lignée cellulaire du cancer du sein
C-	Carbone en position
$C_2$	Plan miroir ou un axe de symétrie
$C_{2v}$	Deux plans de symétrie perpendiculaires
$C_s$	Plan de symétrie
CAB	Blocage androgénique combiné ( <i>combined androgen blockade</i> )
CCM	Chromatographie sur couche mince
$CDCl_3$	Chloroforme deutéré
CDER	Center for Drug Evaluation and Research
CHU	Centre hospitalier universitaire de Québec

CLHP	Chromatographie liquide à haute performance
CPA	Acétate de cyprotérone
CRPC	Cancer de la prostate androgéno-résistant ( <i>castration-resistant prostate cancer</i> )
d	Doublet
DBD	Domaine de liaison à l'ADN
DCC	<i>N,N'</i> -dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichlorométhane
DCU	<i>N,N'</i> -dicyclohexylurée
DHT	Dihydrotestostérone
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DU-145	Lignée cellulaire du cancer de la prostate androgéno-indépendante
f	Faible
FDA	« Food and Drug Administration »
FSH	Hormone folliculostimulante
GM	Geldanamycine
Glu	Glutamine
HeLa	Lignée de cellules tumorales du col de l'utérus
Her2	Lignée de cellules tumorales mammaires
HOP-92	Lignée cellulaire cancéreuse du cancer du poumon à petites cellules
HSP 90	Protéine de choc thermique 90(pour <i>heat shock protein</i> )
HT-29	Lignée cellulaire d'un cancer du colon
i	Intensité
IC <sub>50</sub>	Concentration inhibitrice médiane
IR	Rayonnement infrarouge
J	Constante de couplage (RMN)
LBD	Domaine de liaison au ligand (LBD)
LH	Hormone lutéinisante
LHRH	Hormone gonadolibérine ( <i>Luteinizing Hormone Releasing Hormone</i> )

LNCaP	Lignée cellulaire du cancer de la prostate androgéno-dépendante
m	Multiplet (NMR)
m	Moyen (IR)
M	Métastases (TNM)
M21	Lignée cellulaire d'un mélanome humain
MCF-7	Lignée de cellules tumorales mammaires estrogéno-dépendantes
MDA-MB-231	Lignée de cellules tumorales mammaires estrogéno-indépendantes
MPA	Acétate de médroxyprogestérone
MTT	Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazoline
N	Ganglions lymphatiques (de l'anglais <i>N pour node</i> ) (TNM)
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimide
NTD	Domaine N-terminal
PC3	Lignée cellulaire du cancer de la prostate androgéno-indépendante
PEG	Chaîne polyéthylène glycol
PR	Progestine
py	Pyridine
RA	Récepteur androgénique ou récepteur des androgènes
RA-	Cancer de la prostate androgéno-indépendant
RA+	Cancer de la prostate androgéno-dépendant
RAR/RXR	Récepteurs thyroïdiens des rétinoïdes
RE	Récepteur des estrogènes
RE+	Cancer du sein estrogéno-dépendant
RE-	Cancer du sein estrogéno-indépendant
Rel/NF- $\kappa$ B	Facteurs de transcription
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RSA	Relation structure-activité
s	Singulet
SKBr3	Lignée de cellules tumorales mammaires
SK-MEL-5	Lignée cellulaire cancéreuse du mélanome

SMHR	Spectrométrie de masse à haute résolution
SRB	Sulforhodamine B
t	Triplet
T	Testostérone
T	Tumeur initiale (TNM)
TFA	Acide trifluoroacétique
Thr	Thréonine
TMS	Triméthylsilane
TNM	Système de classement des cancers selon leur extension anatomique
TR	Thyroïdiens
UV	Ultraviolet
VDR	Récepteurs vitamine D
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine

### UNITÉS

$\mu\text{m}$	Micromètre
$\mu\text{M}$	Concentration micromolaire
Å	Ångström
°C	Degré Celsius
cm	Centimètre
$\text{cm}^{-1}$	Par centimètre
dL	Décilitre
g	Gramme
h	Heure
kDa	Kilodalton
mg	Milligramme
Hz	Hertz
min	Minute

mL	Millilitre
mm	Millimètre
mmol	Millimole
ng	Nanogramme
nm	Nanomètre
nM	Nanomole
ppm	Partie par million

## RÉSUMÉ

Le cancer de la prostate est la forme de cancer la plus répandue chez les hommes au Canada. Malgré tous les efforts de recherche, on ne peut pas prévenir l'apparition du cancer de la prostate. Pour cette raison, le dépistage du cancer de la prostate et l'amélioration des traitements connus sont d'une importance capitale pour battre cette maladie. Il existe plusieurs méthodes pour traiter le cancer de la prostate dont la croissance est souvent stimulée aux androgènes. Pour ralentir la progression de ce cancer localisé ou métastatique, l'hormonothérapie est couramment utilisée en clinique. Cela consiste à bloquer les androgènes pour qu'ils cessent de stimuler le cancer. La stimulation hormonale peut être empêchée par le blocage de la production de la testostérone par des analogues du LHRH ou bien par l'inhibition de l'interaction des androgènes sur leurs récepteurs dans les cellules prostatiques à l'aide des antiandrogènes. Néanmoins, l'efficacité de l'hormonothérapie peut diminuer avec le temps : la tumeur se propage indépendamment du taux sanguin des androgènes. On parle d'un cancer « résistant à la castration » ou androgéno-indépendant. Même si la croissance est maintenant indépendante des hormones, le récepteur des androgènes joue encore un rôle important dans la progression du cancer androgéno-indépendant. D'où l'intérêt de cibler ce récepteur pour essayer de trouver de nouvelles molécules antiandrogéniques. Dans le cadre de ce travail, les dimères de la testostérone sont synthétisés pour évaluer leur potentiel antiandrogénique. En effet, étant à base de l'hormone naturelle, la testostérone, on peut s'attendre à ce que ces dimères (ligands bivalents) aient la capacité de lier deux récepteurs des androgènes à la fois et d'ainsi empêcher la dimérisation du récepteur tout en bloquant son activation et en empêchant la division cellulaire. Plusieurs chercheurs ont fabriqué des dimères de médicaments ou de produits naturels pour traiter des maladies comme le cancer, le VIH, l'Alzheimer, la malaria et diverses maladies parasitaires. On retrouve aussi divers exemples dans la nature de molécules dimériques. Un dimère symétrique est constitué de deux sous-unités identiques. Le dimère a des propriétés chimiques et biologiques différentes par rapport au monomère correspondant. Ainsi, ils possèdent souvent une activité biologique supérieure, une sélectivité accrue et une toxicité généralement réduite.

Dans ce projet, deux molécules de testostérone ont été connectées au carbone C-7 du noyau stéroïde. Cette position permet de conserver les groupes fonctionnels importants, le carbonyle en C-3 et l'alcool en C-17, liant le récepteur des androgènes. Pour ce faire, on doit activer le carbone sept du noyau stéroïde en deux étapes chimiques pour obtenir une diénone. Cette dernière permet enfin d'ajouter un groupement allyle au carbone C-7 par une réaction de Sakurai. Enfin, à l'aide de la

métathèse de Grubbs, on peut associer l'acrylate de *tert*-butyle pour obtenir des composés qui permettent d'introduire la chaîne liante entre deux sous-unités dérivées de la testostérone. On utilise comme connecteurs des diols aliphatiques de différentes longueurs et des diols aromatiques de différentes géométries (*ortho*, *méta*, *para*). Ces divers bras de liaison vont nous permettre de faire une étude de la relation structure-activité biologique (RSA) des dimères de testostérone que nous avons conçus.

Mots clés : Cancer de la prostate, hormonothérapie, synthèse, androgène, dimère de testostérone, molécule symétrique, relation structure-activité



## CHAPITRE I

### INTRODUCTION

#### 1.1 Le cancer de la prostate

Le mot cancer désigne plusieurs maladies caractérisées par une prolifération incontrôlée des cellules. Suite à cette croissance cellulaire anormale, le tissu sain d'un organe va être détruit. Deux des quatre cancers les plus fréquents dans le monde sont majoritairement hormono-dépendants. En effet, le cancer du sein et de la prostate, deux cancers hormono-dépendants, sont parmi les plus diagnostiqués chez l'humain (Société canadienne du cancer, 2014). D'où l'intérêt que nous avons à étudier le cancer de la prostate.

Le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes dans le monde occidental (Omlin, 2010). Selon statistique Canada, 97 700 hommes recevront un diagnostic de cancer en 2014. Parmi ce nombre, on estime à 23 600 (24,2 %) cas de cancer de la prostate et à 10 % le nombre de décès provoqués par le cancer de la prostate au Canada (Société canadienne du cancer, 2014). La raison pour laquelle le cancer de la prostate se forme est encore inconnue. On sait que la testostérone et la dihydrotestostérone, les hormones sexuelles mâles, jouent un rôle important dans le changement du corps masculin que l'on appelle caractères sexuels primaires et secondaires, mais ne provoque pas le cancer. Par contre, les androgènes favorisent la croissance de ce cancer, car il se développe initialement de manière androgéno-dépendante.

L'âge et l'hérédité sont considérés comme les facteurs de risque les plus importants pour développer un cancer de la prostate. On soupçonne aussi que ce cancer peut être provoqué par des processus inflammatoires, car on a été capable d'identifier certains gènes pro-inflammatoires activés chez des hommes atteints du cancer de la prostate (Deutsche Krebshilfe, 2011).

Les méthodes les plus importantes pour diagnostiquer ce cancer sont la détection quantitative de l'antigène spécifique prostatique (ASP) en combinaison avec le toucher rectal. L'ASP est produit de façon normale par les cellules prostatiques et les concentrations d'ASP peuvent être mesurées dans un échantillon de sang. Les hommes atteints d'un cancer de la prostate présentent une concentration d'ASP plus élevée que la normale. On parle d'une valeur de 4 ng/mL d'ASP dans le sang comme la valeur limite supérieure (Thrasher et Valk, 2004).

Lorsque le cancer de la prostate est découvert tôt, et qu'il est localisé seulement dans la prostate, le traitement aura plus de chances de réussir. Si le cancer s'étend à d'autres parties du corps, le traitement peut être plus difficile.

## 1.2 La prostate

La glande de la prostate, dont la forme rappelle celle d'une noix, mesure 3 à 4 cm de long et 3 à 5 cm de large. Chez un homme de 20 ans la prostate pèse environ 20 g (Deutsche Krebshilfe, 2011). Elle se trouve entre le rectum et l'os pubien, juste sous la vessie (figure 1.1). Elle constitue un élément important de l'appareil reproducteur masculin. La prostate et les vésicules séminales produisent le liquide séminal. Les canaux déférents, qui relient les testicules avec la prostate, amènent les spermatozoïdes à la prostate où ils sont mélangés avec le liquide séminal pour former le sperme qui passe par l'urètre au moment de l'éjaculation.

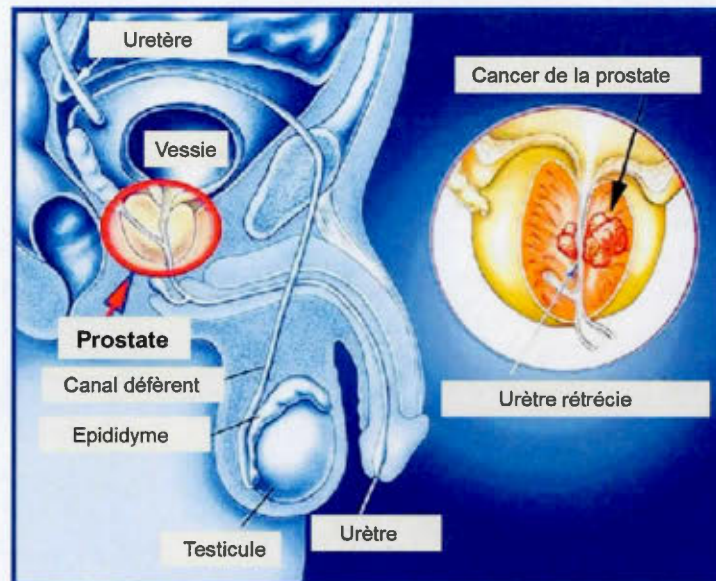


Figure 1.1 L'anatomie de l'organe sexuel de l'homme (modifiée d'Express, 2014).

Alors qu'elle n'a pas un rôle urinaire, la prostate peut entraîner des difficultés urinaires, car elle entoure l'urètre et peut le comprimer lorsqu'elle augmente de volume. Les divers traitements du cancer de la prostate sont décrits à la prochaine section.

### 1.3 Les traitements du cancer utilisés en clinique

Pour sélectionner le bon traitement, il est important de connaître et de différencier les cinq stades du cancer. Le système de classification le plus largement utilisé pour le cancer de prostate est le système TNM.

Le système TNM pour le cancer de prostate est basé sur cinq informations clés (ACS, 2014) :

- 1) La taille et l'endroit de la tumeur primaire dans la prostate (classe T);
- 2) La propagation locale aux ganglions lymphatiques voisins (classe N);

- 3) L'absence ou la présence de métastases avoisinantes de la prostate ou dans tout le corps (classe M);
- 4) Le niveau de l'ASP au moment du diagnostic;
- 5) Le score de Gleason, basé sur la biopsie de la tumeur de la prostate.

Les approches thérapeutiques varient de la surveillance active, la chirurgie, la radiothérapie, l'ultrason localisé, la cryothérapie jusqu'aux traitements médicamenteux. Les traitements médicamenteux incluent l'hormonothérapie et la chimiothérapie. La figure 1.2 résume les divers traitements disponibles à ce jour et les associe aux stades du cancer. Ces traitements peuvent être administrés en monothérapie ou en combinaison.

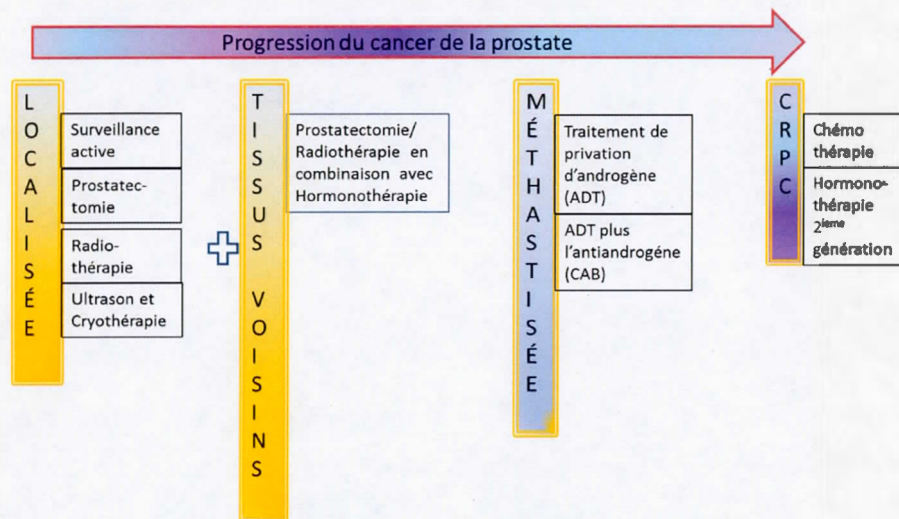


Figure 1.2 Vue d'ensemble de la progression du cancer de la prostate et thérapies utilisées (modifiée de Claessens *et al.*, 2014).

### 1.3.1 Les traitements utilisés pour un cancer localisé

La surveillance active est basée sur l'observation des tissus cancéreux dans la prostate. Cette méthode n'est pas invasive et est préconisée quand la croissance du cancer est très lente et/ou le patient est plus âgé.



**La prostatectomie** totale est l'ablation de la prostate et du tissu voisin porteur des cellules cancéreuses. Avec cette chirurgie, on enlève souvent une partie d'urètre, ce qui peut amener un risque d'incontinence comme effet secondaire.

**La radiothérapie** utilise des rayons de haute énergie pour empêcher la division des cellules cancéreuses dans la prostate et autour de cette dernière. La thérapie par radiation détruit les cellules saines aussi bien que les cellules cancéreuses, mais des cellules saines sont capables de réparer l'effet des rayons contrairement aux cellules cancéreuses qui sont incapables de se régénérer et vont ainsi mourir.

**L'ultrason localisé et la cryothérapie** sont deux autres méthodes pour traiter un cancer localisé à la prostate. Dans ce cas, les cellules cancéreuses sont détruites à l'aide d'ultrasons ou d'une sonde cryogénique. Essentiellement, les cellules cancéreuses sont brûlées soit par la chaleur avec les ultrasons ou par le froid avec la cryothérapie. Ces deux méthodes sont nouvelles et n'ont pas encore été étudiées à long terme (Claessens *et al.*, 2014).

Les traitements décrits ci-dessus sont utilisés pour traiter un cancer localisé dans la prostate ou dans les tissus voisins, alors que les traitements médicamenteux sont utilisés pour les cancers métastatiques ou disséminés.

### 1.3.2 Les traitements médicamenteux

Il sera question de l'hormonothérapie et de la chimiothérapie, deux traitements qui passent par le système sanguin et peuvent agir sur les tumeurs secondaires qui se propagent presque n'importe où dans le corps. Ils sont utilisés pour diminuer la croissance du cancer métastatique et améliorer la qualité de vie du patient sans une garantie de survie (Deutsche Krebshilfe, 2011). L'hormonothérapie vise à inhiber l'effet de l'hormone sur la croissance du cancer hormono-dépendants tandis que la chimiothérapie est utilisée pour traiter les cancers hormono-indépendants.

Il y a plusieurs approches dans l'hormonothérapie pour annuler l'effet stimulant des hormones. La forme de thérapie la plus utilisée est l'ADT (« androgen deprivation therapy » traitement par privation androgénique), dans laquelle la biosynthèse de la testostérone par le corps est arrêtée (Société canadienne du cancer, 2014). Avec cette forme de thérapie, on peut baisser le taux de la testostérone jusqu'à 50 ng/dL (Fong *et al.*, 2012). Le résultat de l'ADT est comparable avec une prostatectomie qui est souvent nommée une castration médicamenteuse (ou chimique) (Société canadienne du cancer, 2014). L'autre forme du traitement hormonal est la CAB (« combined androgen blockade » ou blocage androgénique combiné). Le but de cette approche curative est le blocage des récepteurs des androgènes à la testostérone et la dihydrotestostérone endogène en ajoutant un antiandrogène à l'ADT (Fong *et al.*, 2012). Les antiandrogènes sont utilisés pour perturber l'action de l'androgène au niveau cellulaire. Plus précisément, ils bloquent les récepteurs androgéniques pour inhiber l'influence des androgènes qui sont encore produits malgré l'ADT. Plusieurs exemples de drogues utilisées en cliniques sont décrits à la section 1.5.

L'objectif de la chimiothérapie est la destruction des cellules cancéreuses : soit en empêchant la division cellulaire ou en bloquant la croissance des cellules. Les agentes chimiothérapeutiques utilisées en cliniques ne seront pas discutées dans ce mémoire puisque l'objectif principal du projet est de fabriquer des composés ayant un potentiel antiandrogénique.

### 1.3.3 La résistance aux traitements

La majorité des patients atteints du cancer de la prostate androgéno-dépendant sont susceptibles de développer un cancer qui ne répond plus au traitement hormonal après une période de traitement pouvant varier d'un patient à l'autre (Tilky et Evans, 2014). Les facteurs du développement de la résistance sont divers. D'une part, il est très difficile d'empêcher complètement la synthèse des androgènes. Le corps réagit à un taux faible d'androgènes en trouvant d'autres voies de synthèse de ces

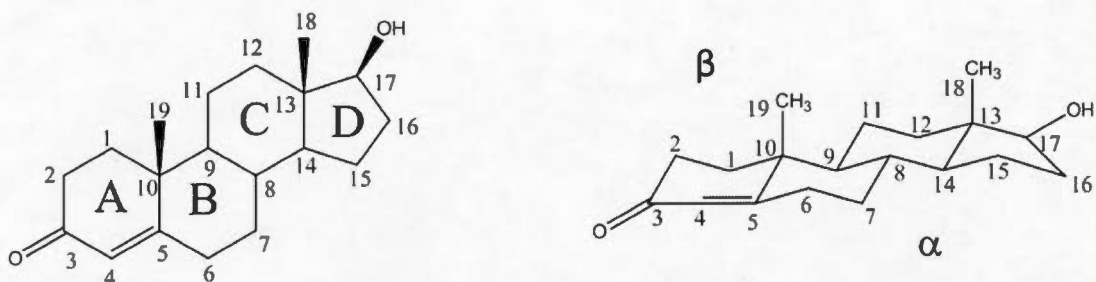
hormones (Fong *et al.*, 2012). D'un autre côté, le récepteur des androgènes peut subir des mutations pour rétablir son activité cellulaire. Par exemple, les facteurs de corégulation peuvent s'adapter pour survivre à un taux très bas de testostérone et de dihydrotestostérone (Tilky et Evans, 2014). Ultimement, il y a développement d'un cancer de la prostate qui progresse malgré d'un traitement de la privation androgénique, le cancer de la prostate androgéno-résistant (CRPC). Il est donc important de toujours améliorer les traitements utilisés et de trouver de nouvelles stratégies pour vaincre cette maladie.

#### 1.4 Les androgènes et leur récepteur

Tel que mentionné à la section 1.1, les androgènes sont essentiels pour le développement des caractères sexuels secondaires et les fonctions sexuelles chez des hommes.

Les androgènes les plus connus sont la testostérone (T) et la dihydrotestostérone (DHT). La T est responsable des effets tels la libido, l'élargissement du pénis, la production de sperme et l'augmentation de la masse musculaire (effet anabolique) (de Groot et Koert, 2006). La DHT est associée à des effets androgéniques, comme la croissance du poil, l'acné, l'élargissement de la prostate et la perte des cheveux (Martin *et al.*, 2004).

La figure 1.3 présente deux formules structurelles et la formule brute de la testostérone. Celle à gauche illustre clairement la structure qui comporte quatre cycles (A-D), alors que l'autre, la représentation semiperspective de Cram, décrit mieux la stéréochimie de la testostérone.



Testostérone,  $C_{19}H_{28}O_2$

Figure 1.3 La représentation de la testostérone par des formules structurales et brute.

La structure de la T consiste à quatre cycles condensés (A, B, C et D). Elle contient 19 carbones dans trois cycles à six (A, B, C), un cycle à cinq carbones (D) et deux substituants méthyliques. Les quatre cycles condensés sont aussi appelés squelette d'androstane (de Groot et Koert, 2006). La testostérone se caractérise par un groupe carbonyle sur le carbone en position 3 (C-3), une double liaison entre C-4 et C-5, le groupe hydroxyle en C-17 et enfin les deux groupes méthyles (C-18 et C-19). L'image sur le côté droit de la figure 1.3 démontre bien que les cycles sont condensés de manière *trans* en jonction ces cycles et tous les substituants sont liés sur le côté  $\beta$  du squelette d'androstane. La conformation résultante est relativement plane et rigide. En plus, cette représentation illustre bien la déformation dans cycle A causée par la double liaison entre C-4 et C-5. Cet endroit joue un rôle important pour différencier la T et la DHT (voir la figure 1.4) (de Groot et Koert, 2006).

La T est la forme androgénique qui circule dans le sang. Dans des cellules, la T est transformée en un androgène puissant, la DHT par l'enzyme  $5\alpha$ -réductase (Pham et Ziboh, 2002).



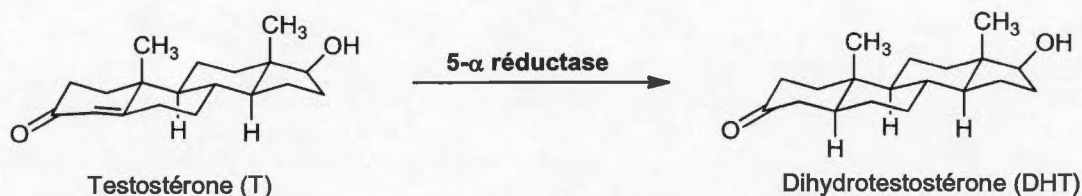


Figure 1.4 Conversion de la testost\u00e9rone en dihydrotestot\u00e9rone par de l'enzyme 5 $\alpha$ -r\u00e9ductase.

La DHT doit interagir avec le r\u00e9cepteur androg\u00e9nique (RA) pour effectuer son activit\u00e9 biologique (Claessens *et al.*, 2014). C'est l'interaction du r\u00e9cepteur androg\u00e9nique et de l'androg\u00e8ne qui est essentiel pour la croissance du tissu prostatique sain : la formation du complexe RA-androg\u00e8ne d\u00e9clenche un encha\u00eenement des diff\u00e9rents processus n\u00e9cessaires pour effectuer la transcription cellulaire, qui permet la croissance des cellules. Le complexe RA-androg\u00e8ne est alors impliqu\u00e9 de la m\u00eame mani\u00e8re dans le d\u00e9veloppement des cellules cancéreuses. Dans la sous-section 1.4.1, les facteurs principaux, impliqu\u00e9s dans la biosynth\u00e8se des androg\u00e8nes, sont pr\u00e9sent\u00e9s.

#### 1.4.1 La biosynth\u00e8se des androg\u00e8nes

Tel que mentionn\u00e9 pr\u00e9c\u00e9demment, la T joue un r\u00f4le important dans la croissance du cancer. Les hormones sont des messagers endog\u00e8nes qui contr\u00f4lent certains organes comme les organes g\u00e9nitaux. Lorsque l'on peut contr\u00f4ler la biodisponibilit\u00e9 de la T, on peut influencer la croissance des cellules cancéreuses qui se d\u00e9veloppent plus vite en pr\u00e9sence de l'hormone (Isaacs, 1994).

Pour ce contr\u00f4le, il y a plusieurs possibilit\u00e9s : on peut bloquer la synth\u00e8se de la T par les testicules (castration m\u00e9dicamenteuse/orchiectomie), on peut inhiber l'impact de la T au niveau des cellules prostatiques par un blocage du RA ou on peut combiner la castration avec un traitement antiandrog\u00e9nique (Delvenne et Pasleau, 2014).

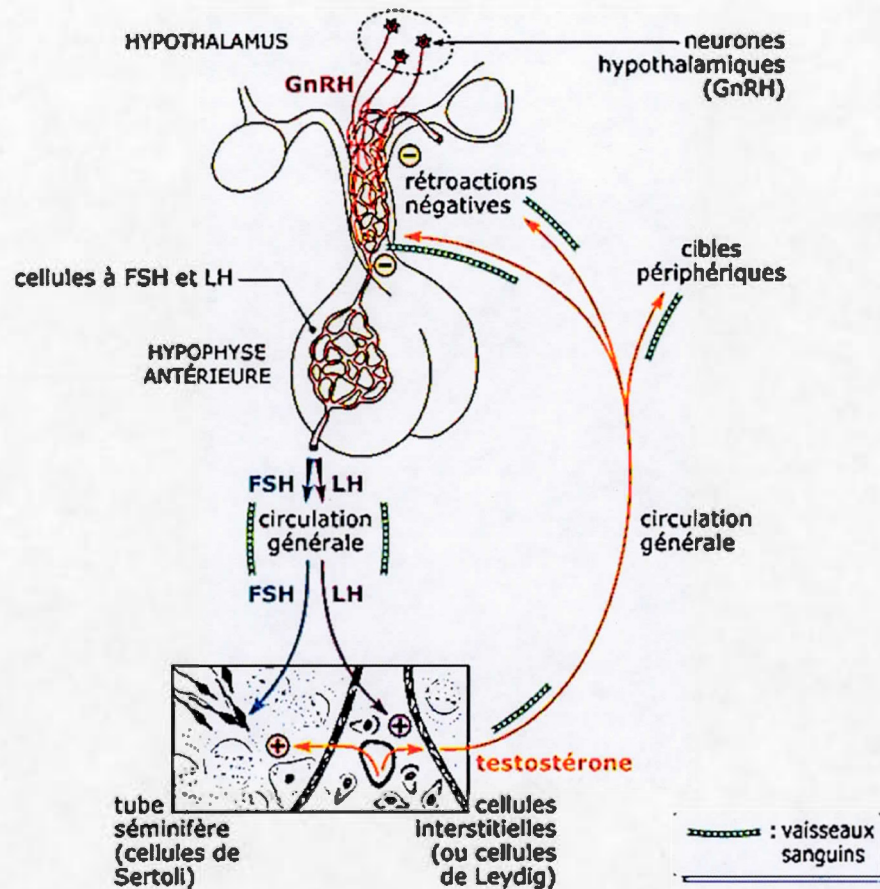


Figure 1.5 Le principe de la régulation physiologique de l'axe gonadotrope chez homme (Vigier, 2006).

La figure 1.5 illustre les facteurs impliqués dans la biosynthèse des androgènes mâle (Vigier, 2006). La synthèse de la T est une réaction en chaîne de plusieurs hormones. La production de la T débute avec la libération de l'hormone LHRH (gonadolibérine) de façon pulsatile par des neurones de l'hypothalamus. Le LHRH hypothalamique donne le signal à l'hypophyse de sécréter les gonadotrophines, la FSH (l'hormone folliculostimulante) et la LH (l'hormone lutéinisante). Ces dernières sont responsables de stimuler la sécrétion de la T dans les cellules de Leydig dans les testicules. Environ 90 % de la T est produite par cette voie. Le reste est produit

par la glande surrénale (Basu et Tindall, 2010). Selon la concentration de la T dans le sang, le rétrocontrôle de la production de la T est déclenché, c'est-à-dire que la libération du LHRH par l'hypothalamus peut être arrêtée ou augmentée, selon le niveau de T dans le sang.

À l'aide d'antagoniste et d'agonistes de la LHRH, on peut ainsi altérer ce cycle de synthèse de la T : les antagonistes de la LHRH concurrencent avec la LHRH naturelle pour se lier aux récepteurs hypophysaires. En se liant sur ces récepteurs, ils les bloquent et ce faisant, inhibent la sécrétion de LH et FSH. Ce conduit à la suppression de la sécrétion de T immédiat (Zerbib *et al.*, 2010). Le degralix (Firmagon<sup>®</sup>) est utilisé pour provoquer la réduction de la T par cette voie. D'autres médicaments, les agonistes de la LHRH, comme le goserelin (Zoladex<sup>®</sup>), la leuprorelin (Prostap<sup>®</sup>) et le triptorelin (Decapetyl<sup>®</sup>) diminuent la production de la T par une désensibilisation des récepteurs hypophysaires (Société canadienne du cancer, 2014) : Ils stimulent les récepteurs de l'hypophyse de sécréter la LH et FSH continuellement. Cette hyperstimulation a pour conséquence une augmentation du taux de la T (flare-up), laquelle est suivie par le tarissement de la sécrétion de la LH et FSH par l'hypophyse et donc la production de la T dans des cellules de Leydig est cessée (Zerbib *et al.*, 2010). Le résultat des deux classes de médicaments est la même : la baisse de la production de la T d'environ 90 % (Basu et Tindall, 2010).

L'autre façon d'arrêter les effets biologiques de la T est l'utilisation d'antiandrogènes. L'antiandrogène bloque les endroits où la T interagit avec son récepteur dans la cellule. Quand la T n'est pas capable de se lier à son récepteur, la transcription est impossible et la cellule va mourir (Tilky et Evans, 2014).

#### 1.4.2 La structure et la conformation du récepteur des androgènes (RA)

Le RA est un membre de la superfamille des récepteurs nucléaires et stéroïdiens. D'autres exemples de ce groupe de récepteurs sont le récepteur des œstrogènes (RE), les récepteurs de la progestine (PR), les récepteurs thyroïdiens des rétinoïdes

(RAR/RXR), les récepteurs thyroïdiens (TR) et les récepteurs de la vitamine D (VDR) (Janosek *et al.*, 2006). Tous les récepteurs de cette famille jouent un rôle important dans la régulation des fonctions du système eucaryote comme la croissance cellulaire et la prolifération et la différenciation cellulaire. Ils partagent des mécanismes d'actions semblables et doivent être activés par un ligand.

Plus spécifiquement, le RA est le seul récepteur nucléaire qui peut être activé par deux ligands, la T ou la DHT. En comparant les deux, le potentiel d'activation de la DHT est environ dix fois plus grand que celle de la T (Askew *et al.*, 2007). Une fois activés, les récepteurs sont des facteurs de transcription intracellulaire avec le potentiel de stimuler ou inhiber les gènes (Janosek *et al.*, 2006). On retrouve le RA dans tous les tissus, principalement dans la prostate, mais aussi dans le système nerveux central, les muscles squelettiques, le foie et les autres (Gao *et al.*, 2006).

La figure 1.6 illustre la localisation du RA sur le chromosome X, l'organisation des huit exons sur le RA gène, la protéine, le RA avec ses quatre domaines fonctionnels et celle-ci dans sa conformation active (Schindler, 2007).

Le gène du RA se trouve sur le chromosome X (Xq11-12) et occupe environ 90 kb de l'ADN. Il est le seul récepteur stéroïdien que l'on trouve sur le chromosome X, ainsi il existe une seule copie de ce gène (Haendler et Cleve, 2011). Il est composé de huit exons qui comptent pour environ 2760 paires de bases. Le RA peut varier de la longueur, mais il est principalement composé d'environ 919 acides aminés avec une grandeur de 110 kDa (Germann, 2002).

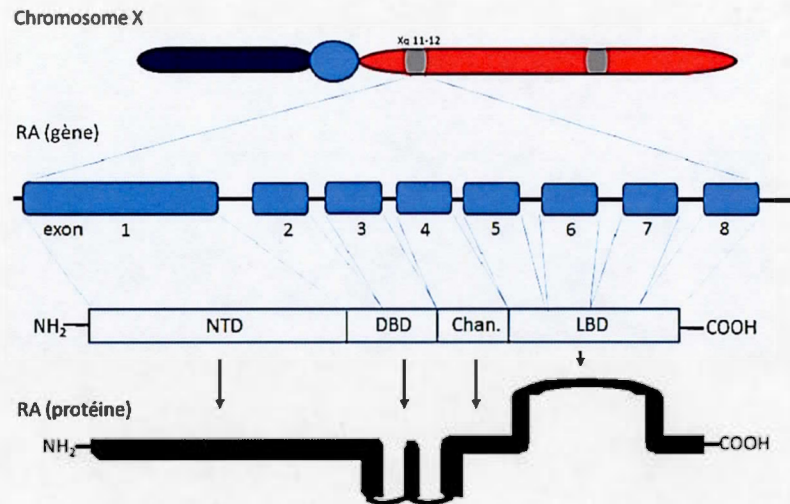


Figure 1.6 Récepteur des androgènes (modifiée de Gelmann, 2002 et Schindler, 2007).

Les huit exons sont divisés en quatre domaines : le domaine N-terminal (NTD), le domaine de liaison à l'ADN (DBD), la région charnière et le domaine de liaison au ligand (LBD).

Le domaine NTD consiste en l'exon 1. En plus d'être la plus grande partie de la protéine (formée par les acides aminés 1 à 558), il est le plus variable de tous les domaines (Rennie *et al.*, 2013). Le NTD contient des sous-unités importantes pour supporter l'activation de la transcription et libération de son chaperon HSP 90 (Gelmann, 2002). Cette région a une importance clé dans la prolifération du cancer androgéno-indépendant (Rennie *et al.*, 2013).

Le domaine suivant est composé des exons deux et trois et contient 67 acides aminés. Il s'appelle le domaine de liaison à l'ADN (ou DBD) qui est assemblé avec deux doigts de zinc. Le premier doigt de zinc est responsable de se lier sur l'ADN (P-box motif), car il montre une affinité spécifique pour l'ARE (courte séquence nucléotidique). Le deuxième doigt de zinc, avec le motif D-box, s'associe avec le



domaine de liaison à l'ADN de l'autre récepteur androgénique en formant l'homodimère (Rennie *et al.*, 2013).

Le plus petit domaine sur le récepteur androgénique est la région charnière (ou hinge) qui se trouve entre le DBD et le domaine de la liaison de ligand (LBD). Il est formé par les acides aminés 626 à 672 (Litvinov *et al.*, 2003). La tâche principale de cette région est le déplacement dans le noyau vers l'ADN. En plus, elle assiste la liaison sur l'ADN et interagit avec des facteurs de coactivation (Claessens *et al.*, 2014).

Le dernier domaine de la protéine est le LBD, un espace reconnaissable aux androgènes, la T ou la DHT. Il consiste en quatre exons et contient les acides aminés 673 jusqu'au 919 (Rennie *et al.*, 2013). Cet endroit est capable de reconnaître la DHT ou la T et de les complexer. Lorsque ce complexe est formé, le LBD donne le signal au récepteur de changer sa forme et de se libérer de la HSP 90, sa protéine de choc thermique (Röpke *et al.*, 2004).

#### 1.4.3 L'interaction des androgènes et du récepteur dans la cellule

La figure 1.7 représente le mode d'action des androgènes et le RA dans la cellule prostatique saine. La T peut diffuser à travers la membrane cellulaire. Dans la cellule, elle peut être réduite par l'enzyme 5 $\alpha$ -réductase en sa forme plus active, la DHT ou elle réagit en sa forme non-réduite, la T. La T ou la DHT (comme ligand) va former un complexe avec le récepteur androgénique.

Avant son activation, le récepteur reste inactif, et est relié à la HSP 90 dans le cytoplasme (Claessens *et al.*, 2014). Le ligand donné, la T ou la DHT, entraîne l'activation du RA. Suite à la formation du complexe RA-DHT, il y a libération de la HSP 90 et le complexe est transporté vers le noyau de la cellule. Le récepteur, activé par l'androgène, forme un dimère avec un autre récepteur activé. Ce dimère subit d'autres réactions comme la phosphorylation et la coactivation avant de se lier

à l'élément de réponse aux androgènes (ERA) (Rennie *et al.*, 2013) et induire ses effets biologiques.

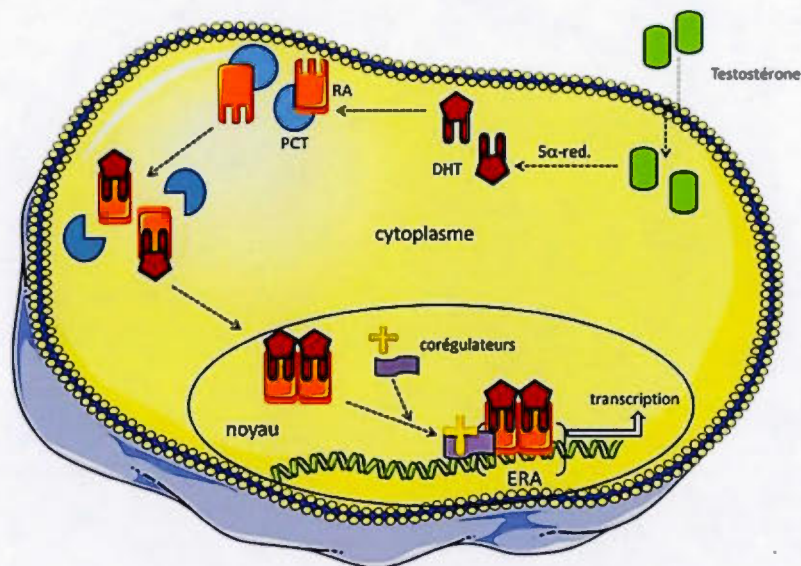


Figure 1.7 Schéma du mécanisme d'action des androgènes de l'interaction à l'activation en passant par l'expression de protéine.

### 1.5 Les antiandrogènes

Les antiandrogènes sont des substances qui peuvent mimer le rôle d'androgènes dans la croissance des cellules. Ils peuvent remplacer l'androgène sur le récepteur sans provoquer l'activation du RA. Ce blocage androgénique est une compétition pour les sites de liaisons sur les récepteurs. Lorsque la liaison entre le RA et l'antiandrogène est formée, le RA assume une forme activée. Par contre, il n'est pas capable d'effectuer les étapes biochimiques subséquentes comme l'homodimérisation ou la transcription sur l'ADN (figure 1.8).

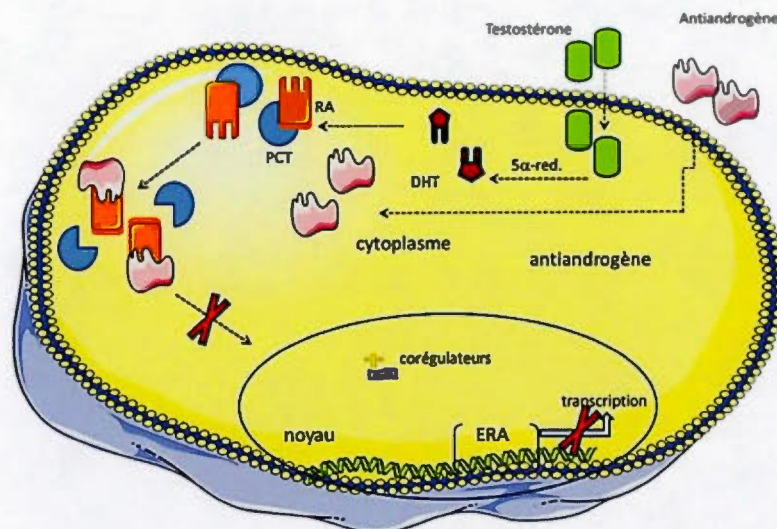


Figure 1.8 Mode d'action des antiandrogènes.

De cette façon, la croissance des cellules et aussi des cellules cancéreuses est ralentie. La plus importante propriété d'un antiandrogène est une forte affinité pour le RA (Singh *et al.*, 2000). Les antiandrogènes n'influencent pas la quantité de T synthétisée.

Les antiandrogènes sont subdivisés en deux groupes qui se distinguent par leurs structures : les stéroïdiens et les non-stéroïdiens (Singh *et al.*, 2000). La figure 1.9 représente deux antiandrogènes stéroïdiens : le CPA (l'acétate de cyprotérone) et le MPA (l'acétate de médroxyprogesterone).

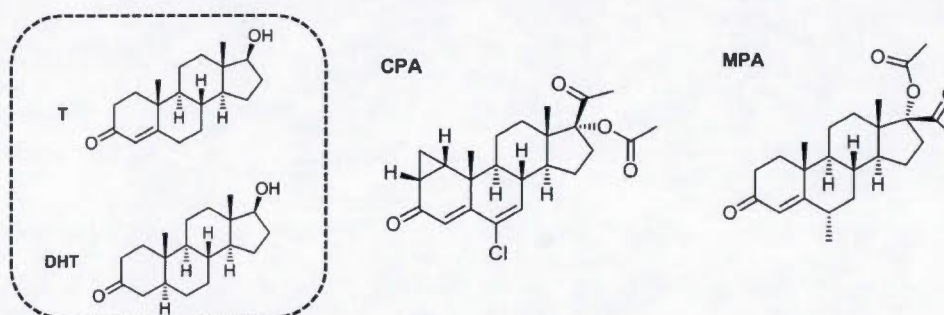


Figure 1.9 Les antiandrogènes stéroïdiens utilisés en clinique (Claessens *et al.*, 2014).



Les principaux antiandrogènes non-stéroïdiens sont illustrés dans la figure 1.10. Il s'agit du bicalutamide (Casodex®), le flutamide (Eulexin®) ainsi que du nilutamide (Anandron®) comme agents de première génération. L'enzalutamide est un agent de deuxième génération (Claessens *et al.*, 2014).

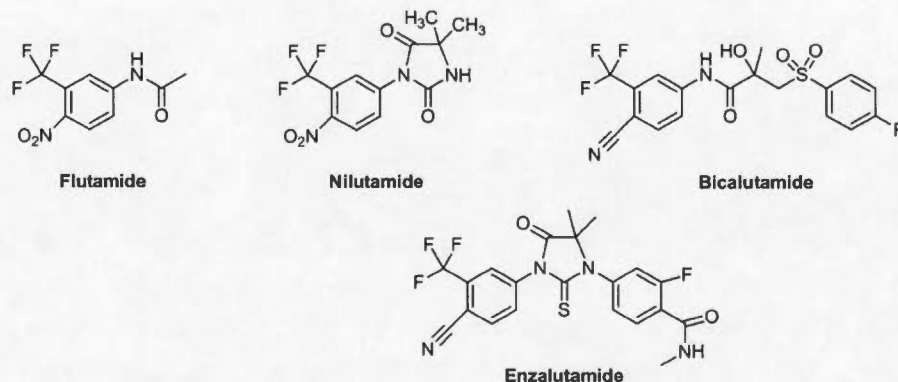


Figure 1.10 Les antiandrogènes non-stéroïdiens utilisés en clinique (Claessens *et al.*, 2014).

Le CPA et le MPA sont constitués du squelette stéroïdien, tandis que les autres ne possèdent pas de ressemblance structurale. L'efficacité des antiandrogènes repose sur la capacité d'interagir avec le récepteur androgénique. La sous-section 1.5.2 traitera plus en détail des diverses relations structure-activité (RSA) et des effets secondaires des antiandrogènes utilisés en clinique.

### 1.5.1 L'interaction entre le RA et l'antiandrogène

Le RA est une protéine qui doit être activée par un ligand. Normalement, il est activé par la T ou la DHT : l'hormone se rend au LBD de la protéine, entre dans la poche et forme le récepteur activé (voir la figure 1.11) (Schindler, 2007).



Figure 1.11 Le RA activé par la testostérone.

Lorsque l'androgène est lié dans la poche, le LBD change sa conformation. Alors se déclenche la réaction en chaîne de plusieurs réactions dans d'autres domaines du récepteur jusqu'à la transcription : l'activation et la translocation nucléaire, la liaison de l'ADN et la régulation de la transcription (Claessens *et al.*, 2014). La figure 1.12 présente un schéma des endroits les plus impliqués dans des processus de l'activation du RA.

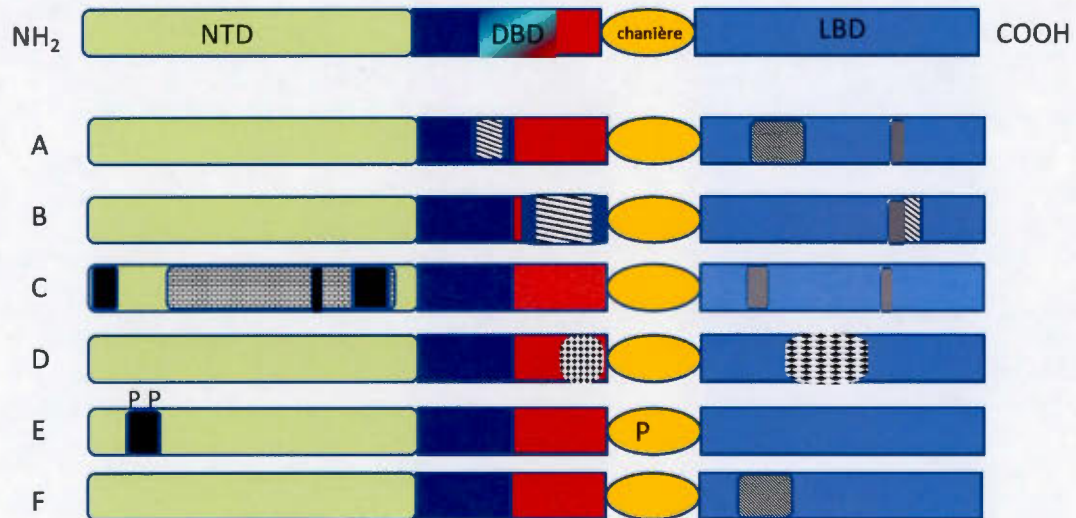


Figure 1.8 Représentation schématique des régions fonctionnelles du RA (tirée de Singh *et al.*, 2000).

La figure 1.8 représente le récepteur androgénique d'une longueur complète, subdivisé dans ses quatre domaines principaux où les endroits qui sont impliqués dans des différentes tâches sont hachurés. La structure **A** illustre les endroits qui sont impliqués dans la formation de la poche pour la liaison des androgènes.

La structure **B** représente les endroits importants pour la formation de l'homodimère RAactivé-RAactivé. La structure **C** affiche les lieux pour la transactivation. **D** indique les lieux importants pour le déplacement vers le noyau. **E** caractérise les endroits qui sont impliqués dans la phosphorylation et enfin le **F** représente l'endroit où le récepteur est lié sur sa HSP 90 (Singh *et al.*, 2000).

La voie de signalisation décrite ci-dessus peut être dérégulée par l'utilisation des antiandrogènes. Les antiandrogènes peuvent se lier dans la poche, mais ils n'ont pas la capacité de déclencher le même changement conformationnel que l'hormone naturelle. De cette manière, ils créent un LBD qui n'est pas capable d'enclencher le même mode d'action (Claessens *et al.*, 2014).

Les conséquences de cette malformation de LBD peuvent résulter en l'activation d'autres domaines de mauvaise façon, en l'inhibition d'autres domaines au complet ou au support de la liaison du corépresseur au lieu de coactivateur. Par conséquent, les antiandrogènes ont des mécanismes variés pour inhiber une ou plusieurs réactions nécessaires aux étapes d'activation de la transcription (Singh *et al.*, 2000, Claessens *et al.*, 2014).

### 1.5.2 Les antiandrogènes utilisés en clinique

Le tableau 1 établit une liste des antiandrogènes principalement utilisés en clinique en comparant les dosages, leur demi-vie et leurs effets secondaires (Aus, 2005).

Tableau 1.1

La demi-vie, le dosage et des effets secondaires des antiandrogènes principaux utilisés en clinique (modifié d'Aus, 2005)

	<b>Bicalutamide</b>	<b>Flutamide</b>	<b>Nilutamide</b>	<b>CPA</b>
Demi-vie	7 jours	5-6 heures	2 jours	30-40 heures
Dose	150 mg/jour	3x250 mg/jour	3 x 100 mg/jour	3x100 mg/jour
Effets secondaires	Hépatotoxicité	Diarrhée	Troubles visuels (Retard d'adaption à l'obscurité)	Niveau faible de testostérone
	Bouffées de chaleur	Hépatotoxicité	Intolérance à l'alcool (20 %)	Perte de la libido
	La sensibilité des seins	Impuissance (20 %)	Nausée	Impuissance (80 %)
	Gynécomastie (70 %)		Hépatotoxicité	Gynécomastie
	Nausée		Pneumopathies interstitielles	Léthargie
	Diarrhée		Impuissance (50 %)	Dyspnée
	Impotence (20 %)			Toxicité cardiovasculaire
				Hépatotoxicité

En comparant les antiandrogènes illustrés dans le tableau 1.1, on peut constater qu'ils ont des effets secondaires très similaires à l'exception du CPA. Le CPA a pour conséquence une perte de libido, alors que le bicalutamide, le flutamide ainsi que le nilutamide n'influencent pas la libido. Les autres effets secondaires du CPA sont associés à sa similarité au squelette des stéroïdes : il peut interagir avec les récepteurs de la progestérone et de glucocorticoïde (Gillatt, 2006). Le CPA est alors responsable d'un risque de toxicité cardiovasculaire élevé et d'un risque d'hépatotoxicité. Il est intéressant par rapport à l'absence du développement de la sensibilité des seins ou de la gynécomastie. L'apparition de bouffées de chaleur est aussi rare avec l'utilisation du CPA (Aus, 2005).

Les antiandrogènes non-stéroïdiens influencent moins la vie sexuelle des patients, car ils n'interagissent pas avec le taux de T ou d'estrogène dans le sang (Gillatt, 2006). En comparant des effets pharmacologiques, les trois agents sont très semblables.

Le bicalutamide est l'antiandrogène le plus souvent utilisé en monothérapie en comparant avec le flutamide ou nilutamide qui sont plus fréquemment utilisés en combinaison. Le bicalutamide est mieux toléré par le corps à cause des effets non-pharmacologiques (Gillatt, 2006).

L'enzalutamide, aussi connu comme MDV3100 (voir la figure 1.10), est un antiandrogène de la 2<sup>e</sup> génération, on l'utilise dans le cas de cancer plus avancé. Ce médicament possède une très grande affinité sur le RA comparativement à d'autres antiandrogènes. De plus, l'enzalutamide inhibe la translocation du récepteur activé dans le noyau de la cellule. Avec l'enzalutamide l'espérance de vie augmente d'environ 5 mois pour les patients en phase terminale du cancer de la prostate. Les effets secondaires de cette drogue sont la fatigue, la diarrhée et les bouffées de chaleur.

En résumé, il est difficile de proposer un meilleur traitement par rapport à un autre. Le choix du traitement antiandrogénique dépend surtout du stade de la maladie, de l'état de santé et de l'âge du patient. Nous venons de comparer les effets secondaires de plusieurs antiandrogènes, nous verrons à la prochaine section les relations entre l'activité et la structure (RSA) de ces derniers.

Comme déjà mentionné à la sous-section 1.4.1, l'impact des antiandrogènes représentés débute avec une « activation fautive du LBD ». Le LBD consiste en une chaîne de 256 acides aminés qui sont enchainés par des liaisons peptidiques. Leurs chaînes latérales peuvent interagir par des forces de van der Waals ou par des liaisons hydrogènes. Ces interactions intermoléculaires sont responsables de la conformation spécifique du LBD et de la conformation du RA activé. Quand un



ligand, comme l'androgène ou l'antiandrogène, interagit avec les chaînes latérales de la protéine, la conformation du domaine va changer dépendamment des interactions formées. Ce changement de la conformation est le déclencheur d'autres processus dans divers domaines du RA, comme la libération de la HSP 90, la dimérisation ou la translocation vers le noyau de la cellule (de Groot et Koert, 2006).

La figure suivante est une représentation schématique du LBD activé par la T. On peut reconnaître la formation de la poche et les liaisons intermoléculaires entre les acides aminés et le ligand. En réalité, il s'agit d'un processus en trois dimensions, mais pour plus de clarté une représentation en 2D est utilisée.

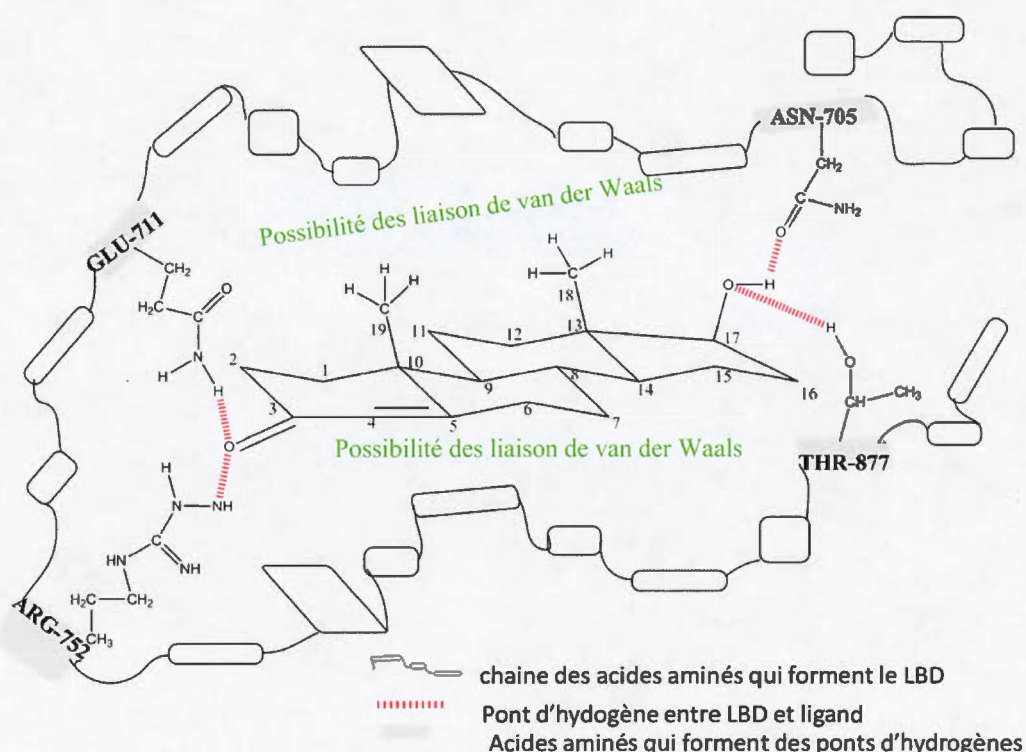


Figure 1.9 Interactions entre la testostérone et le LBD du récepteur (modifiée selon de Groot et Koert, 2006).

Les interactions présentées ci-dessus sont basées sur la structure d'un RA cristallographié aux rayons X publiée par Breton *et al.* en 2006. Ces études ont

montré des ponts hydrogènes entre le groupe carbonyle en position C-3 avec l'acide glutamique (Glu-711) et l'arginine (Arg-752), puis entre le groupe hydroxyle en position C-17 avec l'asparagine (Asn-705) et la thréonine (Thr-877).

Également, il y a des interactions de van der Waals entre les régions apolaires du ligand et celles de la chaîne protéinique au centre de la poche du LBD (Breton *et al.*, 2006). L'ensemble de toutes ces interactions provoque l'activation du RA. Chaque antiandrogène a le potentiel d'activation en déclenchant une conformation modifiée du LBD. De cette façon, l'antiandrogène influence le déroulement des processus suivants.

Pour les antiandrogènes stéroïdiens et le DHT, on peut constater un mode d'activation similaire à la T à cause des structures similaires. La T et la DHT se différencient seulement par l'absence de la liaison double entre les carbones C-4 et C-5, avoisinant du groupe carbonyle. Ce décalage peut changer l'angle du pont hydrogène entre le groupe carbonyle et le Arg-752 ou bien Glu-711 (de Groot et Koert, 2006).

Le CPA, en comparant avec la T, possède une deuxième liaison double entre C-6 et C-7, un chlorure en position C-6, un cyclopropane en C-2 et C-3 et deux groupements acétylés en C-17. Ces caractéristiques structurales influencent son interaction au RA et modifient son mode d'action par rapport à la T.

Les antiandrogènes non-stéroïdiens possèdent une structure très différente de la T. Pour autant ils sont capables d'activer le RA. Ceci est expliqué par de diverses études de RSA (relation structure-activité) (Singh *et al.*, 2000). Les facteurs discutés ci-bas sont les plus importants pour une bonne activité antiandrogénique. En premier, il est important d'avoir un noyau aromatique avec des substituants électroattracteurs qui diminuent la densité d'électrons du système. La deuxième préalable est la présence d'un groupement qui peut fournir des hydrogènes pour former les liaisons hydrogènes. Ensuite, il est important que la molécule possède



une conformation rigide qui peut participer dans les ponts hydrogènes (Singh *et al.*, 2000).

Les antiandrogènes non-stéroïdiens présentés ci-dessus possèdent la bonne structure moléculaire avec des groupements spécifiques qui influencent fortement leur réactivité. Tous les composés antiandrogéniques fournissent un effet activant du LBD avec la capacité de stimuler les autres domaines du RA différemment. En comparant les antiandrogènes de 1<sup>re</sup> génération avec ceux de la 2<sup>e</sup> génération, on peut conclure que la grandeur de la surface de la molécule peut être responsable de l'augmentation de la puissance en possédant plus d'endroits d'interactions de van der Waals à l'intérieur du LBD.

Malheureusement, tous les effets des antiandrogènes provoquent une réaction du RA. Le RA s'adapte et réagit par des mutations susceptibles de rétablir son activité. Après un délai de traitement très variable, l'antiandrogène perd sa capacité d'empêcher l'activité du RA.

À cause de l'aptitude du RA de réagir par une mutation à l'activation fautive antiandrogénique, il est donc important de chercher de nouvelles stratégies de traitements par l'hormonothérapie. Des voies innovatrices peuvent tenter de conserver l'activation du LBD intacte tout en essayant d'inhiber l'activité du RA en ciblant d'autres domaines du récepteur (Claessens *et al.*, 2014).

## CHAPITRE II

### LES DIMÈRES

#### 2.1 Les propriétés d'un dimère

Un dimère est un composé qui est formé de deux sous-unités, par exemple des molécules ou des radicaux. Les sous-unités, alias les monomères, peuvent être identiques, on parle alors d'un homodimère. Ils peuvent se différencier légèrement, on parle alors d'un hétérodimère.

Les dimères sont des molécules plus spacieuses. Elles se composent d'un enchainement de plusieurs molécules. Ceux qui se composent de deux sous-unités relient les monomères directement. Les autres se forment de deux monomères et une molécule qui les connecte. Les dimères synthétisés au cours de ce travail sont tous des homodimères stéroïdiens acycliques qui sont formés de deux molécules de la T et une molécule de connexion. Le dimère se caractérise souvent par une symétrie moléculaire et une activité biologique supérieure par rapport des molécules non reliées. Dans la plupart des cas, on retrouve une symétrie bilatérale (Voloshchuck *et al.*, 2004).

La symétrie bilatérale est définie comme un groupe possédant une symétrie  $C_2$  (un plan miroir ou un axe de symétrie), une symétrie  $C_s$  (un plan de symétrie) ou une symétrie  $C_{2v}$  (deux plans de symétrie perpendiculaires) dans la molécule (Voloshchuck *et al.*, 2004). Dans la nature, les molécules chirales avec une symétrie

d'un axe  $C_2$  ou d'un plan miroir sont les plus fréquentes avec environ 69 % des cas. Par comparaison, celles qui possèdent une symétrie  $C_s$  sont présentes à 14 % et le  $C_{2v}$  à 16 % des cas retrouvés dans la nature (Voloshchuk *et al.*, 2004).

À part d'être reliées entre eux, les deux sous-unités d'un dimère gardent leur réactivité et/ou souvent leur propriété biologique respective à condition qu'ils conservent leurs pharmacophores. En comparant avec le monomère, le dimère peut passer par un état de transition thermodynamique favorable lors de sa liaison avec deux sites de liaison adjacents sur un récepteur (Bérubé, 2006). La figure suivante montre un modèle d'interactions possibles d'un dimère ayant une symétrie bilatérale sur deux sites de liaison voisins.

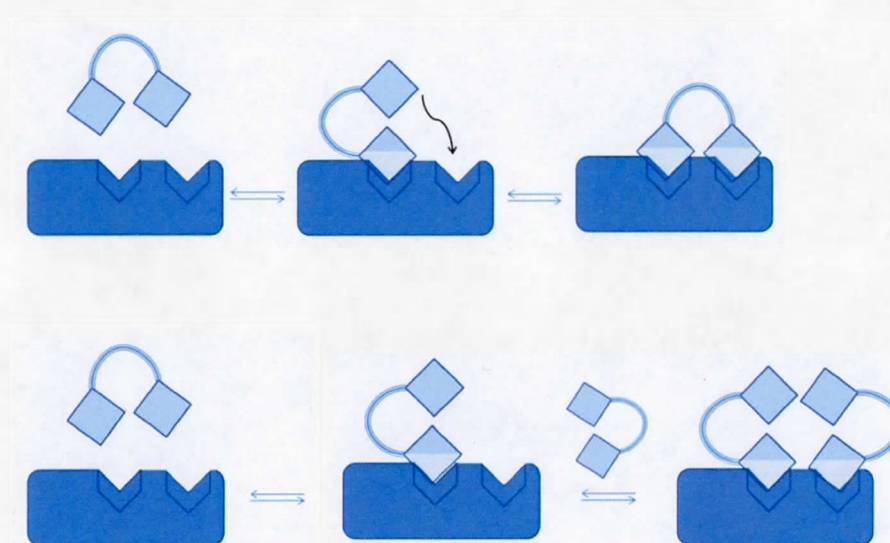


Figure 2.1 Interactions possibles d'un dimère symétrique sur deux sites de liaison voisins (modifiée de Bérubé, 2006).

Dans la première partie du modèle de la figure 2.1, le dimère peut occuper les deux sites avoisinants, car le lien qui relie les sous-unités du dimère possède une longueur optimale. La longueur de la chaîne liante ou l'arrangement spatial permet aux deux monomères d'occuper chacun un site de liaison. Un connecteur de longueur approprié et considéré comme étant optimal.

L'autre partie du modèle représente le cas où le bras de liaison entre les deux sous-unités est inadéquat pour permettre l'occupation des sites avoisinants par un seul dimère (connecteur de longueur inapproprié). Autrement, il arrive que deux dimères (avec un bras de liaison idéal ou non idéal) puissent occuper les sites adjacents simultanément. Le résultat est le même dans les deux cas présentés : on obtient un récepteur où les deux sites de liaisons sont occupés par des molécules avec une interaction modifiée en raison de sous-unités additionnelles qui peuvent encore interférer. Enfin, on peut conclure que la diversité des interactions possibles sur des récepteurs est la raison pour laquelle les dimères sont intéressants pour la conception de nouveaux médicaments. En effet, un dimère est capable de se lier à deux endroits adjacents d'un récepteur ou peut interagir avec deux récepteurs indépendants. Se faisant, il y a potentiellement augmentation de la puissance et de la sélectivité d'un dimère par rapport à un monomère (Blagg et Hadden, 2008).

## 2.2 Les deux types de dimères

La recherche qui traite des dimères distingue deux groupes principaux : les dimères naturels et ses analogues ainsi que les dimères synthétiques. Ces derniers sont synthétisés à partir de monomères d'intérêts en raison de leurs propriétés biologiques (Blagg et Hadden, 2008). Dans cette section, nous verrons quelques exemples de ces deux types (ou groupes) de dimères.

### 2.2.1 Les dimères naturels

L'acide torreyanique (voir la figure 2.2) est une quinone dimérique isolée d'un endophyte (*Pestalotiaopsis microspora*) (Lee, *et al.* 1996). Le dimère est actif sur 25 lignées de cellules cancéreuses humaines avec une valeur d'IC<sub>50</sub> (concentration inhibant la croissance cellulaire de 50 %) de 9,4 µg/mL en moyenne (Lee *et al.*, 1996). L'acide possède une cytotoxicité de 5 à 10 fois supérieures par rapport aux cellules qui sont sensibles aux agonistes de la protéine kinase C (Blagg et Hadden, 2008).

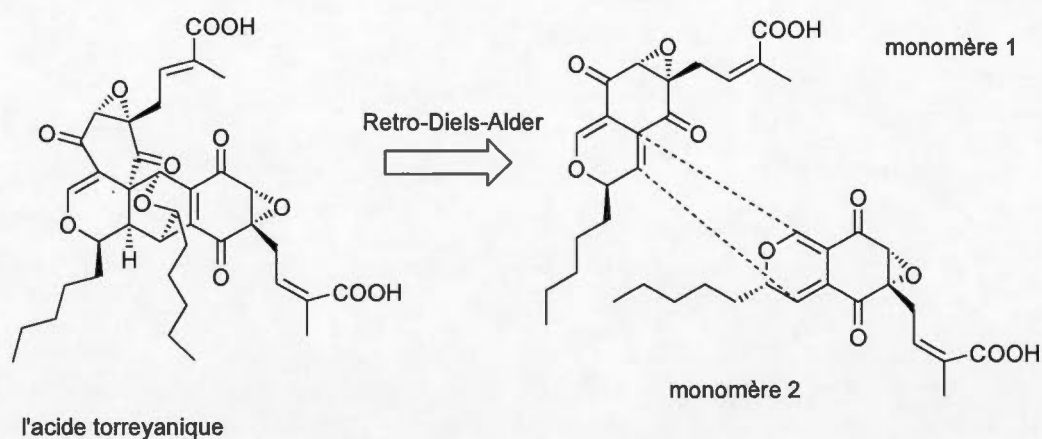


Figure 2.2 L'acide torreyanique (tirée de Blagg et Hadden, 2008).

Un autre exemple de ce groupe est la jesterone, une substance antimycosique, qui est isolée d'endophyte *Pestalotopsis jester* (Blagg et Hadden, 2008). Elle est aussi évaluée pour ses propriétés anti-cancéreuses à cause de sa formule structurale similaire à l'acide torreyanique, comme illustrée dans la figure 2.3.

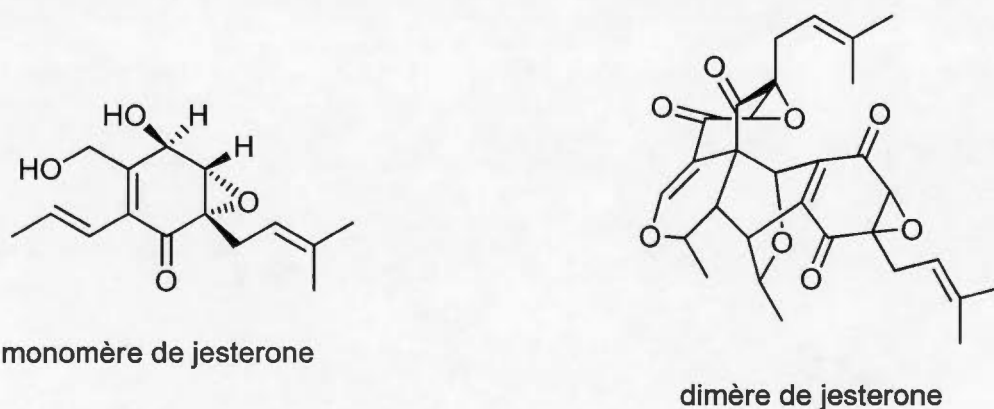


Figure 2.3 Les structures monomérique et dimérique de la jesterone.

Le dimère et le monomère de la jesterone ont été testés sur trois lignées de cellules cancéreuses humaines. Dans ces tests, l'activité du dimère est de 10 à 200 fois plus élevée que celle du monomère (Blagg et Hadden, 2008). Comme mode d'action, on propose que le dimère inhibe l'activité du Rel/NF- $\kappa$ B pour l'apoptose des cellules cancéreuses (Blagg et Hadden, 2008).

Un autre dimère naturel est la coumermycine A1. C'est un antibiotique de la famille de la coumarine. Cette dernière est utilisée pour bloquer l'activité de l'enzyme l'ADN gyrase bactérienne de catalyser le pliage de l'ADN (Blagg et Hadden, 2008). De plus, elle inhibe la protéine de choc thermique (HSP 90) (Burlison et Blagg, 2006).

En comparant la coumermycine A1, comme dimère, avec le novobiocine, comme monomère (voir la figure 2.4), le dimère montre une  $IC_{50}$  d'environ  $75 \mu M$ . Cette activité est dix fois supérieure à celle du monomère envers la dégradation de la protéine de choc thermique HSP 90 de la SKBr3, des cellules cancéreuses du sein humain (Blagg et Hadden, 2008).

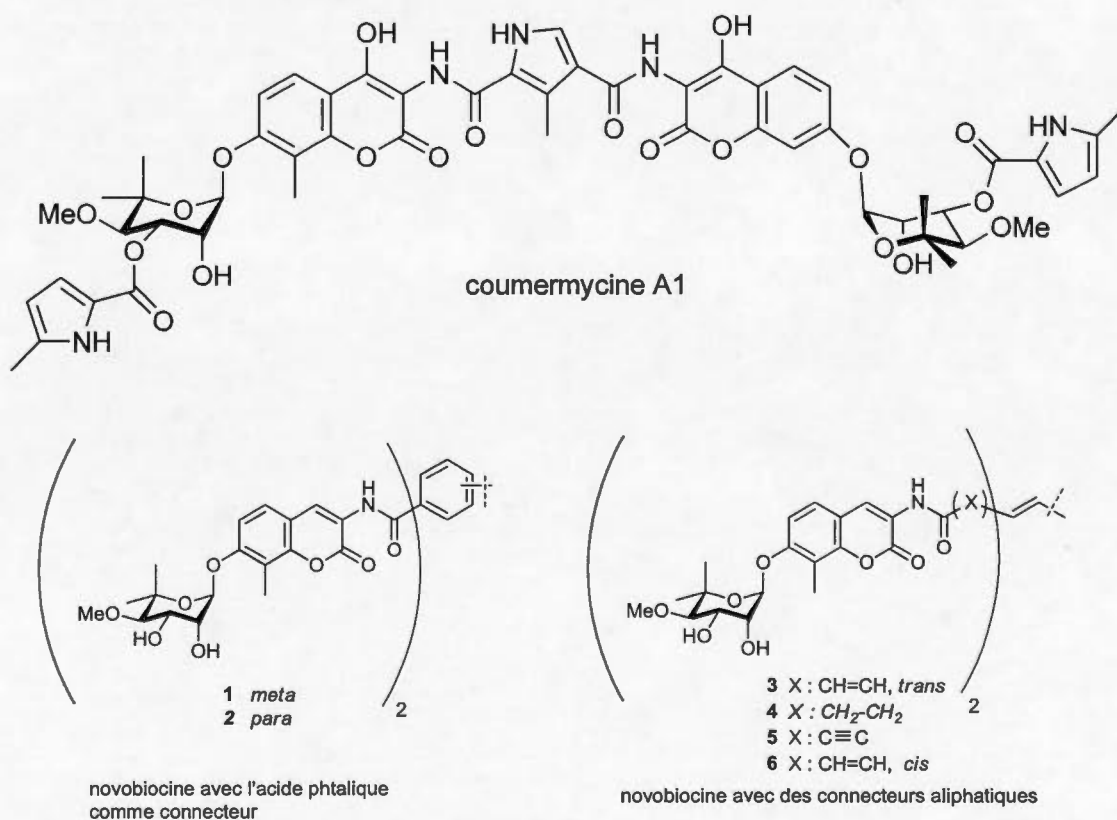


Figure 2.4 Structures de la coumermycine A1 et des dimères analogues (tirée de Blagg et Hadden, 2008).



Burlison et Blagg ont synthétisé des dimères provenant de la novobiocine pour investiguer l'influence du connecteur (aliphatique ou aromatique) entre les deux sous-unités sur l'activité biologique (Burlison et Blagg, 2006). Ce dimère est comparé avec la coumermycine A1. Pour ce faire, ils ont synthétisé des dimères du squelette moléculaire de la novobiocine liés avec des acides phtaliques, substitués en *meta* (1) ou en *para* (2) pour remplacer le connecteur naturel (le pyrrole) de la coumermycine A1. La deuxième série d'analogues de la coumermycine A1 est reliée à l'aide de connecteurs aliphatiques (dimères 3 à 6) où l'influence de la liaison entre les deux sous-unités du dimère est analysée (Burlison et Blagg, 2006).

Dans le cadre des études de la relation entre la structure et l'activité des dimères synthétisés, ceux-ci sont testés sur leurs capacités d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses. Le tableau 2.1 montre les résultats de l'étude d'influence de la constitution (nature) du connecteur sur l'activité (Burlison et Blagg, 2006).

Tableau 2.1

Activité inhibitrice (IC<sub>50</sub>) sur la dégradation de la protéine de choc thermique HSP 90 de la coumermycine A1 et des analogues 1 à 6

Composé	MCF-7 IC <sub>50</sub> (μM)	SKBr3 IC <sub>50</sub> (μM)	Her2 IC <sub>50</sub> (μM)
Novobiocine	352 ± 54	464 ± 2	357 ± 3.0
Coumermycine A1	5.0 ± 0.1	8.8 ± 0.1	1.6 ± 1.2
Dimère 1	> 100	> 100	> 100
Dimère 2	> 100	> 100	> 100
Dimère 3	3.9 ± 0.7	1.5 ± 0.1	5.6 ± 1.3
Dimère 4	2.7 ± 1.0	1.9 ± 0.2	6.7 ± 1.3
Dimère 5	16.2 ± 0.2	82.2 ± 0.7	95.2 ± 1.6
Dimère 6	23.9 ± 5.4	27.6 ± 2.9	86.9 ± 7.8

En analysant le tableau, on peut constater que les connecteurs à base d'acides phthaliques, les dimères **1** et **2**, ne montrent aucune activité inhibitrice. Le dimère **4** avec une chaîne liante saturée possède la meilleure activité. Cette recherche démontre très bien l'influence qui repose sur la nature du connecteur et l'activité biologique d'un dimère.

### 2.2.2 Les dimères synthétiques

Les dimères synthétiques sont conçus à partir des monomères qui possèdent une activité biologique connue. Une fois transformés en dimères, on observe souvent une augmentation de cette activité biologique et habituellement, de manière synergique (Blagg et Hadden, 2008).

La geldanamycine (GM), illustrée dans la figure 2.5, est un antibiotique qui inhibe la croissance des cellules en occupant le site de liaison à l'ADP/ATP3 de la protéine HSP 90. Cette protéine joue un rôle important dans le contrôle du cycle cellulaire et, en bloquant la liaison de l'ATP, le changement de la conformation de la protéine est bloqué. Par conséquent, la division cellulaire est arrêtée (Blagg et Hadden, 2008).

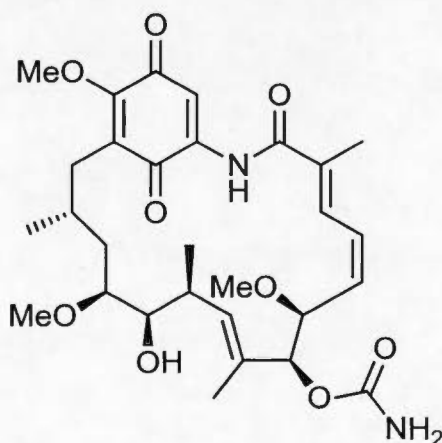


Figure 2.5 La structure du monomère geldanamycine (GM) (tirée de Blagg et Hadden, 2008).

La série de dimères de la GM contient différentes sortes de connecteurs pour tester l'influence de la liaison sur l'activité inhibitrice. Les connecteurs avec des chaînes de sept carbones et moins possèdent une activité biologique qui est comparable avec celle du GM ( $IC_{50}$ s = 60-70 nM vs 45 nM). Le dimère de la GM, qui est synthétisé avec une chaîne de quatre carbones ( $n = 2$ ), est le dimère le plus intéressant de cette série (voir la figure 2.6). Ce dimère possède une sélectivité antiproliférative envers des lignées de cellules cancéreuses qui surexpriment Her2 (Blagg et Hadden, 2008).

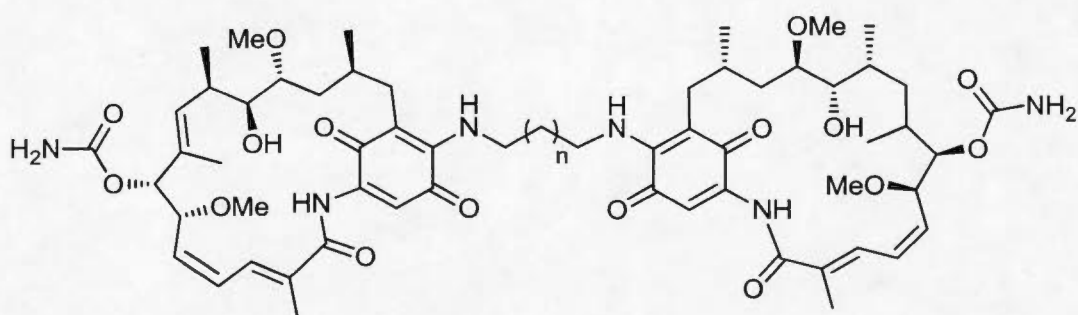


Figure 2.6 Le structure du dimère de la geldanamycine (modifiée de Blagg et Hadden, 2008).

Un autre exemple des dimères de ce groupe est les azinomycines. L'azinomycine B est un produit naturel isolé du *Streptomyces griseofuscus*, qui possède une activité anticancéreuse en inhibant la réticulation des hélices de l'ADN. Il est capable de se lier au sillon majeur des hélices de l'ADN et d'inhiber sa réplication à cause des groupes électrophiles réactifs, plus spécifiquement l'époxyde et l'aziridine (voir la figure 2.7) (Hamilton et Arya, 2012).

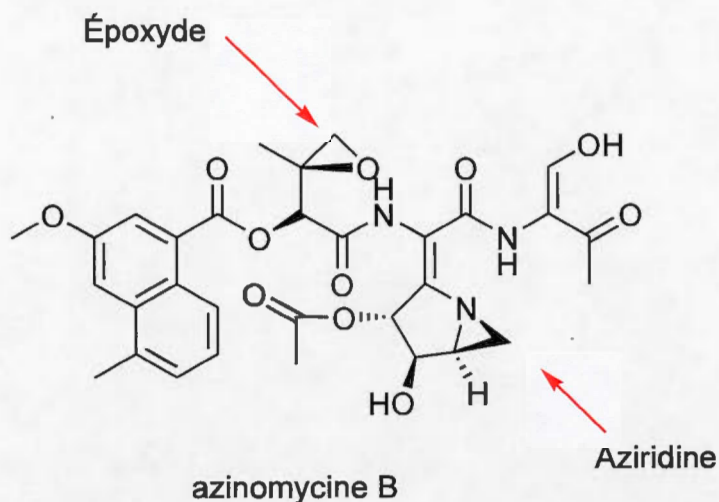


Figure 2.7 La structure de l'azinomycine B. Les flèches rouges indiquent les sites réactionnels entre l'azinomycine et l'ADN (modifiée d'Hamilton et Arya, 2012).

L'azinomycine, avec sa structure unique, a contribué à la synthèse de plusieurs bisépoxydes simplifiés (figure 2.8). Le design des dimères possédant deux époxydes, lesquels sont importants pour la cytotoxicité, est prometteur. En se basant sur la localisation de l'époxyde sur l'azinomycine naturel, les dimères synthétiques peuvent être liés de diverses manières. La connexion rigide à l'aide de *m*-diaminobenzène, comme représentée à la figure 2.8 par le dimère A, forme un composé dimérique ayant une cytotoxicité moyenne de  $IC_{50} = 0,15 \mu M$  envers 60 lignées des cellules cancéreuses humaines (Finerty *et al.*, 2009).

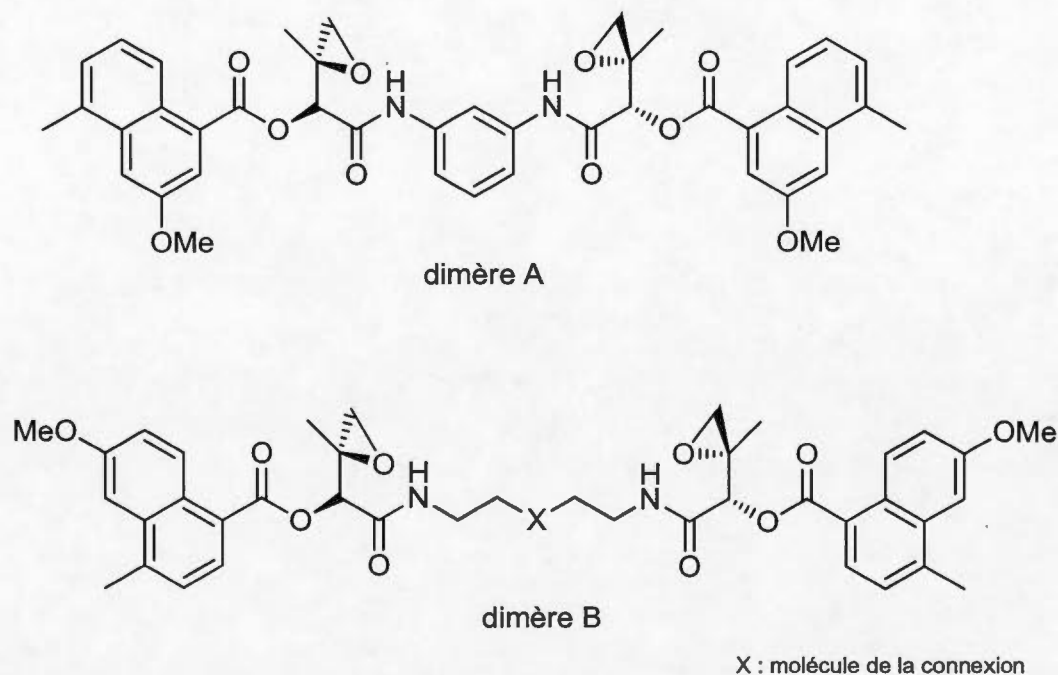


Figure 2.8 Des exemples des dimères de bisépoxydes inspirés par la structure de l'azinomycine B, avec des connecteurs variés (X) (modifiée de Finerty *et al.*, 2009 et de LePla *et al.*, 2005).

Le dimère B à la figure 2.8 représente la structure de dimères synthétiques avec des connecteurs aliphatiques. Ceux avec une chaîne méthylène ( $X = \text{CH}_2$ ) possèdent une capacité d'inhiber la réticulation de l'ADN (Blagg et Hadden, 2008). LePla *et al.* ont démontré que le changement de  $X = \text{CH}_2$  par un groupe NMe augmente l'activité de la réticulation de l'ADN par 7 à 9 fois. Ce dimère possède aussi une cytotoxicité de 3 à 10 fois supérieure à l'analogue de référence ( $X = \text{CH}_2$ ) contre les lignées de cellules tumorales humaines testées (LePla *et al.*, 2005).

Les dimères, analogues de l'artémisinine, un produit naturel isolé de la plante *Artemisia annua*, ont été testés sur 60 lignées cancéreuses humaines. L'artémisinine est un médicament contre la malaria. Cette lactone sesquiterpénique possède un pont endoperoxyde réactif qui est responsable de son activité antimalarienne (Blagg et Hadden, 2008).

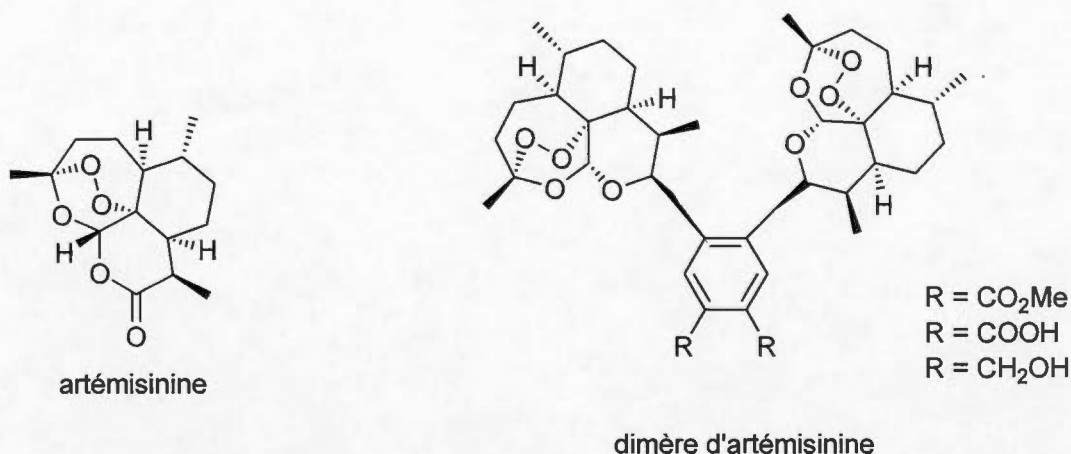


Figure 2.9 La forme monomérique et dimérique de l'artémisinine (tirée de Blagg et Hadden, 2008).

Il existe plusieurs séries de dimères d'artémisinine qui ont été préparés afin d'augmenter sa stabilité à l'hydrolyse. Une de ces séries est synthétisée avec des dérivés de l'acide phthalique comme connecteur (figure 2.9, Blagg et Hadden, 2008). Les essais antiprolifératifs démontrent que le dimère porteur de deux fonctions esters ( $R = \text{CO}_2\text{Me}$ ) se caractérise par une sélectivité remarquable contre certaines lignées cancéreuses, comme les cellules du cancer du poumon à petites cellules (HOP-92), les cellules cancéreuses du mélanome (SK-MEL-5), et les cellules cancéreuses du cancer du sein (BT-549). Le dimère porteur d'hydroxyméthyles ( $R = \text{CH}_2\text{OH}$ ) montre une activité élevée contre les cellules cancéreuses du col de l'utérus (HeLa). De manière avantageuse, ce dimère n'a aucune toxicité envers les cellules saines du col utérin (Blagg et Hadden, 2008).

Le prochain chapitre traite des dimères stéroïdiens synthétisés par le groupe de recherche du professeur Gervais Bérubé.

### 2.2.3 La synthèse des dimères stéroïdiens

La première série de dimères est synthétisée à partir de l'estrone. Les deux sous-unités sont interconnectées par une liaison ester et des chaînes



alkyles ou bien par une chaîne polyéthylène glycol (PEG) de longueurs variables localisées en position *beta* du squelette stéroïdien (voir la figure 2.10) (Bérubé, 2006).

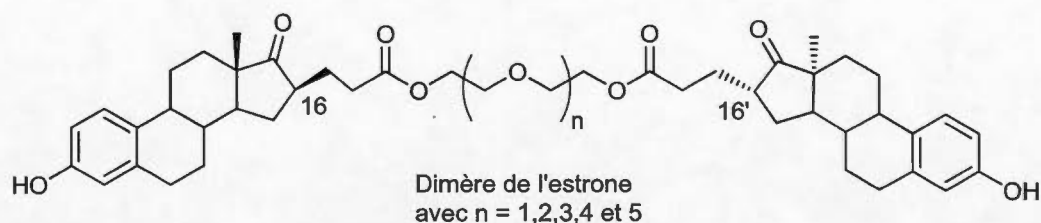


Figure 2.10 Le dimère de l'estrone interconnecté par un ester et une chaîne PEG (modifiée de Bérubé, 2006).

Les dimères d'estrone ont été testés pour leur pouvoir antiprolifératif contre des lignées cellulaires du cancer du sein estrogéno-dépendante (MCF-7) et estrogéno-indépendante (MDA-MB-231). Malheureusement, ces dimères n'ont pas d'activité antiproliférative. La seconde série de dimères a été synthétisée à partir de l'estradiol via une liaison éther à la position 17 du stéroïde comme illustré à la figure 2.11 (Bérubé, 2006). Ces dimères à base d'estradiol liés par une liaison éther montrent une meilleure capacité d'interaction avec le récepteur des estrogènes (RE). La cytotoxicité de dimères synthétisés est évaluée sur les lignées cellulaires du cancer du sein, MCF-7 (RE+) et MDA-MB-231 (RE-). De plus, ils ont été testés sur une lignée cellulaire du cancer de la peau (B16-F10) et une du colon (HT-29).

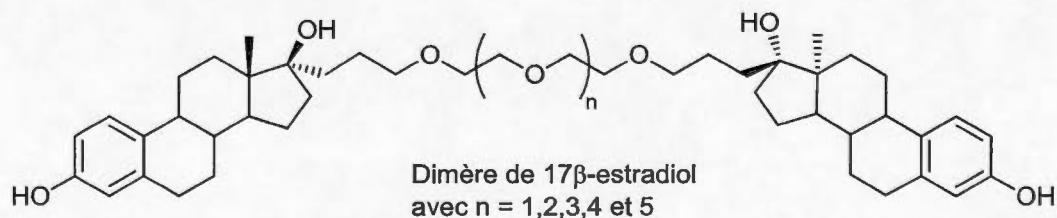


Figure 2.11 Le dimère de 17 $\beta$ -estradiol interconnecté par un ester et une chaîne PEG (modifiée de Bérubé, 2006).

Certains de ces dimères montrent une sélectivité par rapport à la lignée cancéreuse MCF-7 (RE+), mais l'activité antiproliférative était faible en comparant avec le tamoxifène, un antiestrogène connu. L'affinité des dimères sur les récepteurs oestrogéniques, l'RE $\alpha$  et l'RE $\beta$ , était aussi déficiente (Bérubé, 2006). C'est d'ailleurs surprenant que les dimères possèdent une cytotoxicité envers les lignées cancéreuses du cancer de la peau (B16-F10) et ce faisant, ils ouvrent de nouvelles possibilités pour leur utilisation (Blagg, 2008).

Les deux premiers dimères de la T, synthétisés par le groupe de recherche du Professeur Gervais Bérubé, sont présentés à la figure 2.12. Ces dimères sont liés par métathèse d'oléfines et ils se forment en deux isomères, le dimère *cis* et le dimère *trans*. Pour les synthétiser, la T a été préalablement modifiée en ajoutant une chaîne allyle liée à la position 7 $\alpha$  du noyau stéroïde (Bastien *et al.*, 2010).

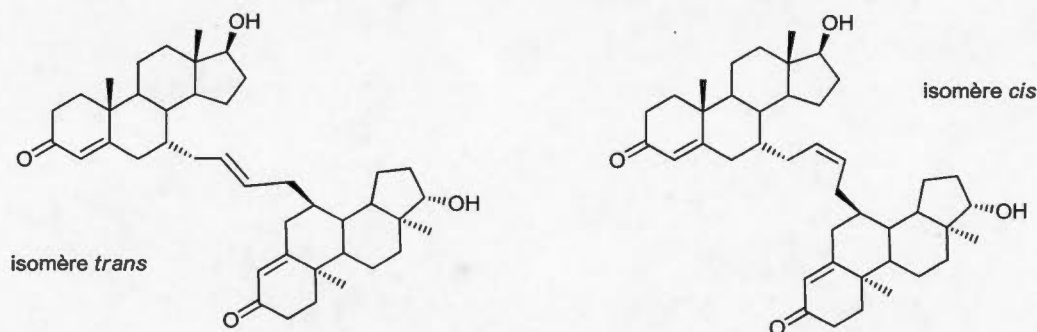


Figure 2.12 Dimères de la 7 $\alpha$ -testostérone (tirée de Bastien *et al.*, 2010).

Les molécules dimériques sont testées sur une lignée cellulaire du cancer de la prostate androgéno-dépendante (RA+), la LNCaP, et une autre androgéno-indépendante (RA-), la PC3. L'activité biologique est ensuite comparée avec l'acétate de cyprotérone, un antiandrogène utilisé en clinique. Le tableau 2.2 présente les résultats des essais d'antiprolifératifs par le test MTT (Bastien *et al.*, 2010).

Tableau 2.2

Résultats des essais antiprolifératifs (MTT) des isomères *trans* et *cis* du dimère de la testostérone et de l'acétate de cyprotérone sur la lignée cellulaire androgéno-dépendante (LNCaP) et androgéno-indépendante (PC3)  
(Résultats tirés de Bastien *et al.*, 2010)

Lignées cellulaires cancéreuses	RA	Concentration inhibitrice sur les cellules cancéreuses de la prostate		
		CPA	isomère- <i>trans</i>	isomère- <i>cis</i>
		IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)
<b>LNCaP</b>	+	43,07 ± 2,51	-	30,34 ± 0,65
<b>PC3</b>	-	32,28 ± 3,72	35,65 ± 1,94	24,74 ± 1,50

Cependant, les résultats sont inattendus, car les dimères présentent une plus grande activité biologique sur la lignée cellulaire androgéno-indépendante. Toutefois, l'activité des dimères est similaire à celle de l'acétate de cyprotérone. La concentration inhibitrice sur les cellules cancéreuses de la lignée PC3 (RA-) de l'isomère *trans* est comparable avec celle de l'acétate de la cyprotérone, et quant à lui, le dimère *cis* est légèrement plus actif que l'acétate de cyprotérone. Sur la lignée cellulaire androgéno-dépendante LNCaP (RA+), l'isomère *trans* est inactif et l'isomère *cis* est plus actif que l'acétate de cyprotérone (Bastien *et al.*, 2010).

On peut supposer que l'affinité des dimères sur le récepteur des androgènes est faible à cause d'une flexibilité insuffisante de la connexion (une chaîne but-2-ène). Dans ce cas, l'optimisation de la longueur ou géométrie de la chaîne liante pourrait permettre une liaison plus forte. Néanmoins, le résultat de l'activité biologique est fort prometteur (Bastien *et al.*, 2010). En résumant, on peut constater que l'étude de dimères est un domaine de recherche intéressant et présente un potentiel élevé de développement de nouvelles molécules thérapeutiques. Néanmoins, même s'ils ont des similarités structurales avec les monomères de base, ils présentent quand même des différences de réactivité ou de sélectivité. Le défi de ce champ de

recherche est surtout de trouver la bonne connexion pour lier les deux sous-unités monomériques.

### 2.3 Objectifs du projet

Le but de ce projet est le développement de nouveaux composés ayant un potentiel antiandrogénique efficace et présentant un minimum d'effets secondaires. On veut atteindre ce but par la synthèse d'homodimères de la T, l'hormone naturelle mâle (figure 2.13). Ces dimères consistent en deux molécules de T liées par une chaîne de longueur variable.

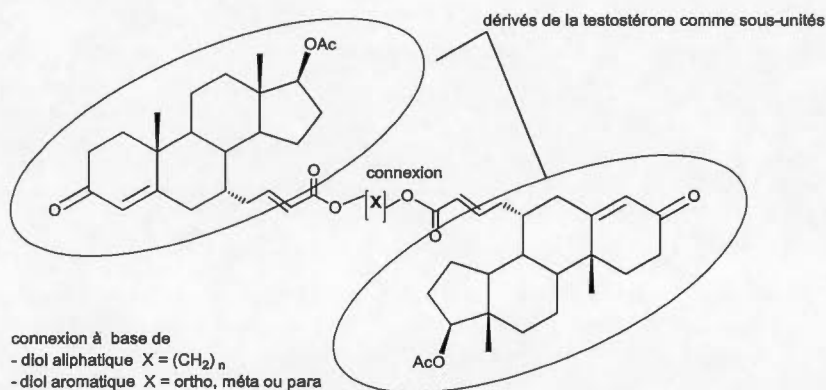


Figure 2.13 Structure des différents homodimères de la testostérone à préparer au cours de mon projet de recherche.

Tel que déjà mentionné à la sous-section 1.3.2 du chapitre I, des modifications structurales mineures de la T peuvent avoir des effets avantageux pour altérer le fonctionnement normal de la cellule. Les figures suivantes vont montrer les possibilités de modifier l'interaction du ligand avec son récepteur pour empêcher la transcription. On veut créer un complexe ligand-récepteur fonctionnel qui n'est pas capable d'effectuer la transcription. La figure 2.14 illustre le mode d'action normal de la T (ou DHT) dans la cellule. La T complexe le RA qui est encore relié à la HSP 90. Ensuite, la libération de la HSP 90 et la formation de l'homodimère surviennent.

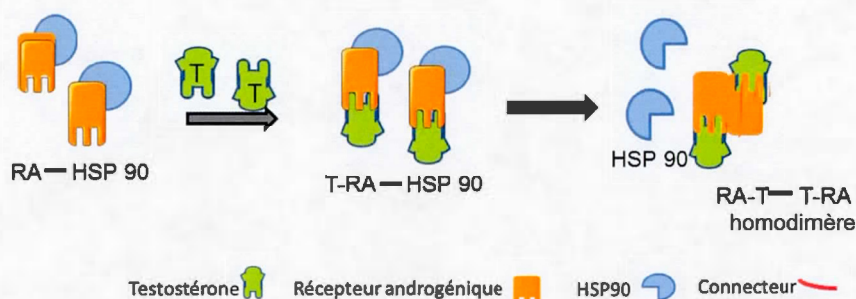


Figure 2.14 Schéma du mécanisme d'action des androgènes avec l'HSP 90 et l'activation du récepteur (voir aussi la figure 1.7).

La figure 2.15 explique l'effet possible d'une molécule bivalente à la base de T sur l'homodimérisation du RA. Pendant que la première sous-unité du dimère se lie dans la poche du LBD d'un RA, la deuxième T du dimère peut aussi activer un autre RA en formant les liaisons nécessaires entre les acides aminés et le ligand au LBD. De cette façon, un dimère ayant deux sous-unités du complexe de T-RA est formé et, une fois les HSP 90 libérées, on obtient le dimère RA-T—T-RA. L'homodimérisation du dimère RA-T—T-RA sera influencée par la nature et la longueur de la chaîne liante entre les deux têtes testostérone du dimère.

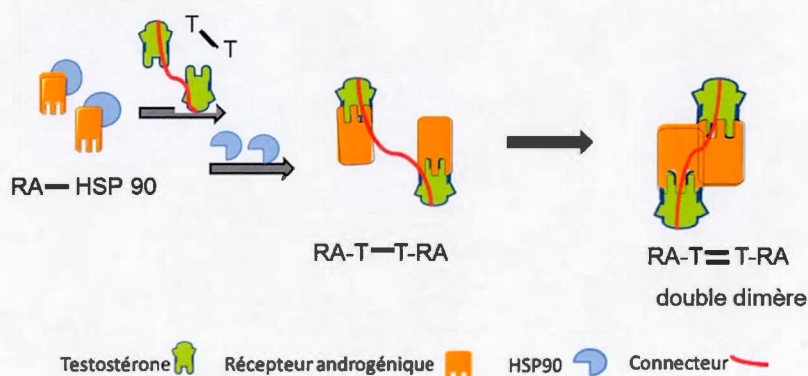


Figure 2.15 Modèle d'interactions entre un dimère T—T porteur d'une chaîne liante de longueur idéale et le RA.

Avec ce complexe RA-T—T-RA initialement formé, il y a plusieurs possibilités pour l'homodimérisation du RA selon les propriétés chimiques du connecteur : la longueur



et/ou la géométrie de la chaîne liante. La figure 2.15 montre le dimère (T-T) avec une connexion adéquate. Le connecteur possède donc d'une longueur très appréciable et est stériquement accessible pour effectuer l'homodimérisation du complexe RA-T—T-RA en donnant le complexe RA-T=T-RA. On peut parler de la formation d'un « double dimère » qui se caractérisera par une sélectivité et une activité différente selon la nature de la chaîne liante.

Contrairement à la figure 2.15, la figure 2.16 représente deux modes de blocage de l'homodimérisation du RA.

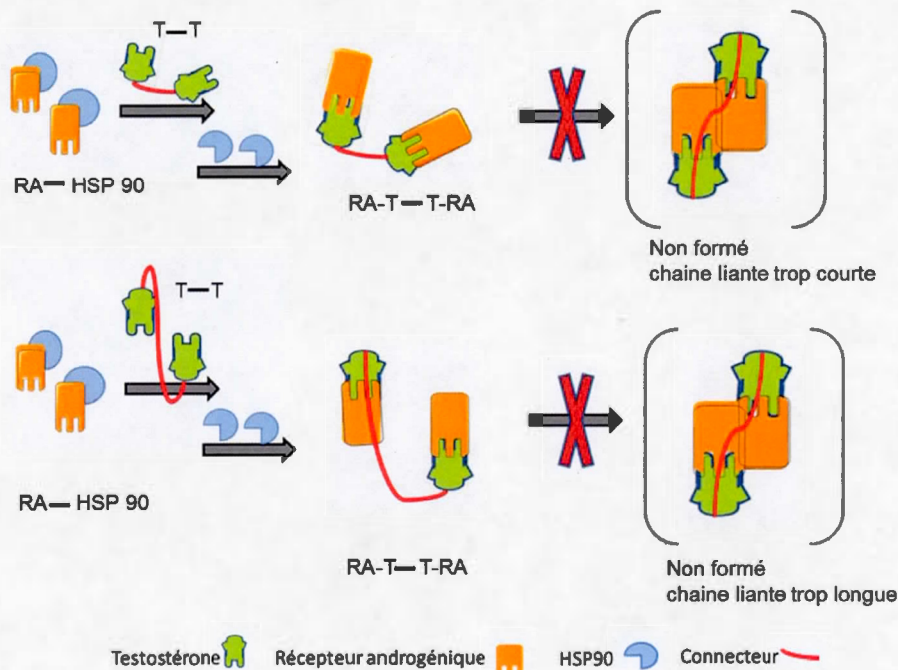


Figure 2.16 Le blocage de l'homodimérisation du RA provoqué par des dimères de T (T—T) liés par une chaîne inhibant l'homodimérisation.

Dans le premier cas, la connexion est trop courte ou trop rigide pour que les récepteurs interagissent. Bien que la libération du HSP 90 fonctionne pour donner le complexe RA-T—T-RA, l'homodimérisation des récepteurs est inhibée. Ainsi, la transcription est bloquée. Dans le deuxième cas, le connecteur possède une chaîne trop longue ou trop encombrée. Le complexe RA-T—T-RA est formé, mais les



récepteurs ne sont pas capables de s'homodimériser. Le résultat est que deux récepteurs activés (RA-T—T-RA) par le dimère de T vont simplement se dégrader sans faire la transcription.

Les exemples des figures 2.15 et 2.16 décrivent des scénarios où les propriétés physicochimiques du connecteur ont inhibé ou modifié le mode d'action du récepteur plutôt que son homodimérisation. Dans ces exemples, la connexion entre les complexes RA-T—T-RA n'influence pas la transcription. Il est aussi possible que la chaîne liante entoure les complexes RA-T—T-RA en bloquant les positions où les facteurs de corégulation peuvent normalement se lier.

À la figure 2.17, le blocage est obtenu par la formation d'un polymère de RA activés -RA-T—T-RA-.... Il est formé par plusieurs récepteurs en interaction avec différents complexes RA-T—T-RA. Il est à noter que la polymérisation pourrait théoriquement se produire avec n'importe quelles chaînes liantes utilisées pour fabriquer le dimère (T—T). Enfin, le polymère obtenu est trop grand pour se lier à l'ERA et effectuer la transcription.

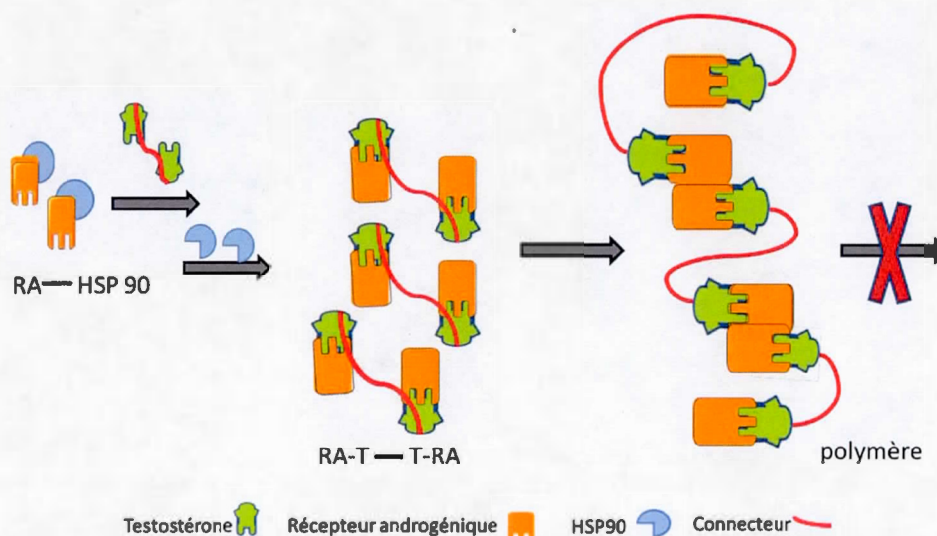


Figure 2.17 La formation d'un polymère à l'aide des complexes RA-T—T-RA.

Les effets antiandrogéniques potentiels décrits précédemment sont basés sur des concepts physicochimiques simples.

- Le nombre du RA est élevé dans les cellules prostatiques cancéreuses (Tilky et Evans, 2011) et, avec chaque dimère de T, deux sous-unités de la T sont à la disposition de la cellule. Selon la théorie de la collision, le nombre de collisions efficaces augmente avec la concentration des molécules impliquées.
- Ce point traite du fait qu'une réaction chimique peut être influencée par des facteurs stériques. On peut inhiber complètement la réaction, plus spécifiquement l'homodimérisation du RA, par un bon choix du connecteur (longueur et/ou géométrie). Les facteurs stériques existent aussi lors de la synthèse de « double dimère » de la figure 2.15. Le « double dimère » peut se former, mais il est impossible d'ignorer l'encombrement stérique de la chaîne liante sur l'homodimère ( $RA-T \equiv T-RA$ ). S'il bloque l'endroit où les corégulations prennent place, la transcription sera encore une fois inhibée.
- En utilisant l'hormone naturellement disponible dans les cellules pour former les dimères ( $T-T$ ), il peut être possible de minimiser ou ralentir la mutation du RA, car il interagit naturellement avec les deux têtes testostérone. La mutation du RA est un facteur majeur pour le développement de la résistance contre l'hormonothérapie. En plus, les effets secondaires sont éliminés et la qualité de vie de la personne atteinte du cancer prostatique est augmentée.

Finalement, on peut constater que la synthèse des dimères de la T a le potentiel de former des antiandrogènes efficaces et « naturels » (semi-synthétique) présentant probablement un minimum d'effets secondaires. Le prochain chapitre portera sur la synthèse de dimères de la T à base de chaînes liantes aliphatiques et aromatiques. Une étude préliminaire des effets antiprolifératifs de nos nouveaux dimères sur diverses lignées cellulaires cancéreuses sera aussi présentée.

## CHAPITRE III

### SYNTHÈSE DES DIMÈRES DE LA TESTOSTÉRONE

L'objectif de ce chapitre est de montrer la synthèse des dimères de la T préparé à l'aide de connecteurs variés. Pour assurer l'efficacité des dimères finaux, il faut choisir la bonne connexion et conserver les fonctionnalités de la T intactes. Pour atteindre ce but, il est nécessaire de modifier la T en ajoutant un point d'ancrage là où les molécules peuvent être connectées sans bloquer les groupes fonctionnels importants pour sa liaison au récepteur et sans changer les caractéristiques du stéroïde.

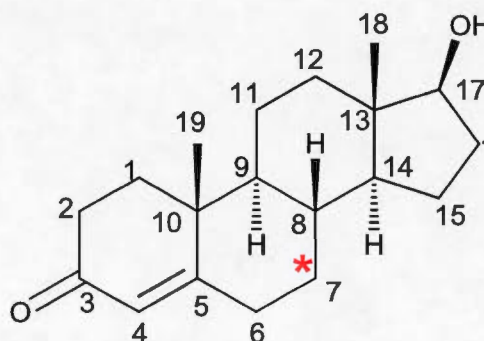


Figure 3.1 Structure de la testostérone (1) avec le point d'ancrage en C-7(\*).

Les fonctionnalités importantes pour la liaison au RA sont le groupe carbonyle en position C-3 et le groupe hydroxyle en position C-17. La meilleure position pour ajouter le point d'ancrage se trouve à la position C-7 (voir l'étoile rouge à la

figure 3.1). Cet endroit est chimiquement plus accessible contrairement à l'autre côté de la molécule. De plus, le C-7 est à mi-chemin entre les deux groupes fonctionnels (C-3 et C-17) essentiels à la liaison au RA. Malheureusement, cet endroit ne possède aucune réactivité chimique inhérente. Les premières étapes de notre schéma de synthèse consistent donc à activer cette position.

### 3.1 Synthèse de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énique (6)

Cette section traite de la synthèse de la molécule de départ pour la synthèse des dimères de T. La figure 3.2 montre un schéma en cinq étapes (A, B, C, D et E) pour la formation de l'acide  $\alpha$ - $\beta$ -insaturé 6.

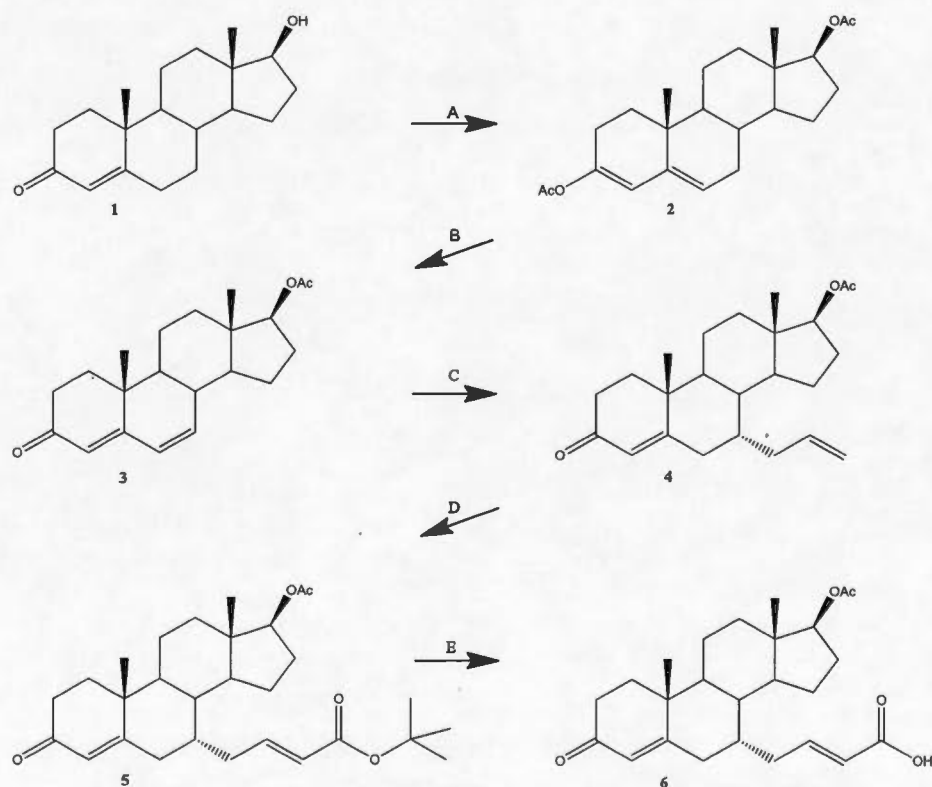


Figure 3.2 Schéma de synthèse de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6) en cinq étapes (A à E).

Les réactions A et B, présentées à la figure 3.2, servent à activer la position C-7 du noyau stéroïde en vue d'y introduire une chaîne allyle via la réaction C (Sakurai et Hosomi, 1976, Bastien, 2008). Les transformations E et F sont nécessaires pour introduire la fonction acide carboxylique sur la 7 $\alpha$ -allyle-testostérone (**4**) (Morin, 2012).

La réaction A sert à la formation du diacétate d'androsta-3,5-diène-3,17 $\beta$ -diol (**2**) à partir de la T. Ensuite, cet intermédiaire est transformé par la réaction B en une diènone, l'androsta-4,6-diène-17 $\beta$ -ol-3-one (**3**). À l'aide de la transformation C, une chaîne allylique est ajoutée à la molécule. Le 7 $\alpha$ -allyl-androst-4-ène-17 $\beta$ -ol-3-one (**4**) est synthétisé donnant ainsi un point d'ancrage à la position C-7 de la T. La réaction D permet de former l'ester *tert*-butylique de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**5**). L'étape E consiste en une déprotection pour libérer l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**6**).

Les réactions présentées à la figure 3.2 sont discutées plus en détail ci-bas. La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN de  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ) est utilisée pour valider la structure chimique des molécules obtenues à chaque étape.

La transformation A (voir la figure 3.3) a pour but de protéger les deux groupes fonctionnels de la T et de former une deuxième liaison double dans le cycle B du noyau stéroïdien. L'acétylation du groupe carbonyle en C-3 produit une attraction des électrons, la double liaison entre C-4 et C-5 se déplace vers C-3 et C-4 et une deuxième double liaison est créée entre les C-5 et C-6 dans le cycle B. Le diacétate d'androsta-3,5-diène-3,17 $\beta$ -diol (**2**) est synthétisé en solubilisant la T (**1**) dans l'anhydride acétique en présence de chlorure d'acétyle et de pyridine à reflux. Le rendement de cette réaction est de 97 %.



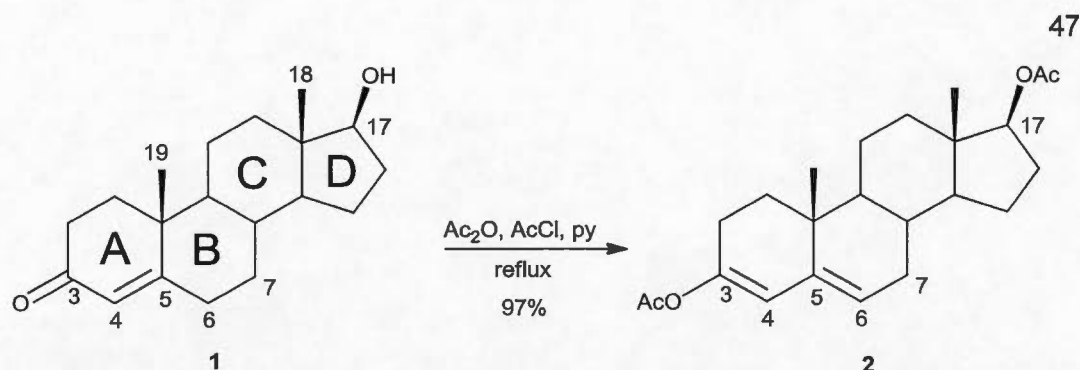


Figure 3.3 Synthèse du diacétate d'androsta-3,5-diène-3,17β-diol (**2**).

La réaction B, représentée dans la figure 3.4, se déroule en deux étapes et permet de former l'androsta-4,6-diène-17β-ol-3-one (**3**) avec un rendement de 86 %. La première étape consiste à former le bromure allylique intermédiaire en position C-7 du noyau stéroïdien, en solubilisant le diacétate d'androsta-3,5-diène-3,17β-diol (**2**) dans du diméthylformamide (DMF). La *N*-bromosuccinimide (NBS) est ajoutée pour l'initiation de la substitution radicalaire. La NBS se brise en formant des radicaux de bromure et de succinimide. Le produit de la propagation ou de la terminaison de la réaction radicalaire est l'occupation de la position 7 $\alpha$  par un brome (structure non dessinée). Cette première étape affaiblit la liaison de l'oxygène du groupement d'acétate au carbone C-3 par l'effet électroattracteur du brome à la position C-7. Dans la deuxième étape, l'ajout du carbonate de lithium ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ) et du bromure de lithium, permet de reformer l'énone en position C-3 et de former la liaison double entre les carbones C-6 et C-7, par l'élimination du brome.

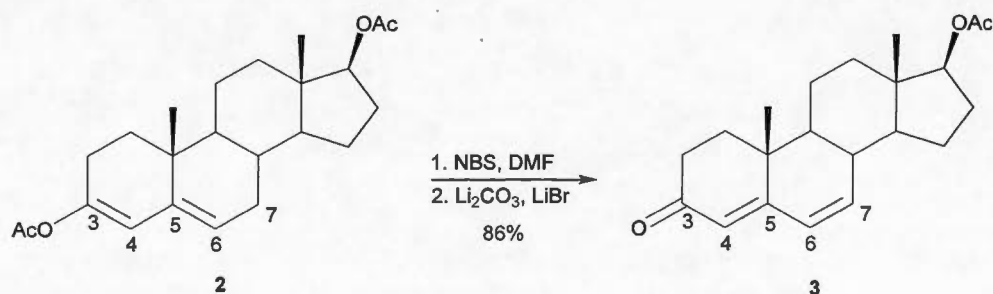


Figure 3.4 Synthèse d'androsta-4,6-diène-17β-ol-3-one (**3**).



La réaction C permet d'ajouter la chaîne allylique en position  $7\alpha$  du noyau stéroïde. Le produit de l'étape B est solubilisé à basse température dans du dichlorométhane (DCM) sec. Ensuite, la pyridine, le tétrachlorure de titane ( $\text{TiCl}_4$ ) et finalement l'allyltriméthylsilane solubilisé dans du DCM séché, sont ajoutés (figure 3.5). L'addition du groupement d'allyle s'effectue de façon stéréospécifique du côté opposé aux substituants méthyles du noyau stéroïdien. La réaction débute en attaquant le tétrachlorure de titane par des électrons libres du groupe carbonyle en C-3. Ensuite, le complexe formé réagit avec l'allyltriméthylsilane pour former un cation en  $\beta$  du triméthylsilane ( $\beta$ -TMS). Le cation  $\beta$ -TMS est alors dégradé par l'anion chlorure éjecté de la complexation initiale avec le carbonyle en C-3. Il se forme ainsi le chlorure de TMS. Le résultat de cette étape est la formation de l'acétate de  $7\alpha$ -allyl-androst-4-ène-17 $\beta$ -ol-3-one (**4**) avec un rendement de 63 %. Cette addition se nomme réaction de Sakurai.

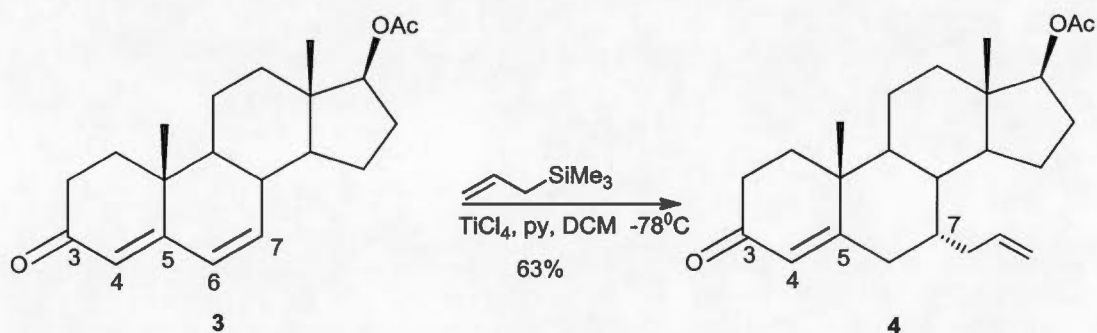


Figure 3.5 Synthèse de l'acétate de  $7\alpha$ -allyl-androst-4-ène-17 $\beta$ -ol-3-one (**4**).

Dans la réaction D, l'acétate de  $7\alpha$ -allyl-androst-4-ène-17 $\beta$ -ol-3-one (**4**) est dissous dans du DCM sec et combiné avec l'acrylate de *tert*-butyle (voir la figure 3.6). La métathèse de Grubbs est utilisée pour synthétiser l'ester *tert*-butylique de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**5**). Le couplage de deux doubles liaisons se fait en présence d'un catalyseur de Grubbs 2<sup>e</sup> génération, ce qui se traduit en un état de transition cyclique entre un alcène et un métal-alkylidène. Ici, le chlorure d'allyle réagit avec le catalyseur en formant le complexe ruthénuim-allyle chlorure, laquelle va réagir avec la double liaison terminale du

noyau stéroïdien par un état de transition du métallocyclobutane. On obtient l'ester *tert*-butylique de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (5) avec un rendement de 89 % via cette transformation.

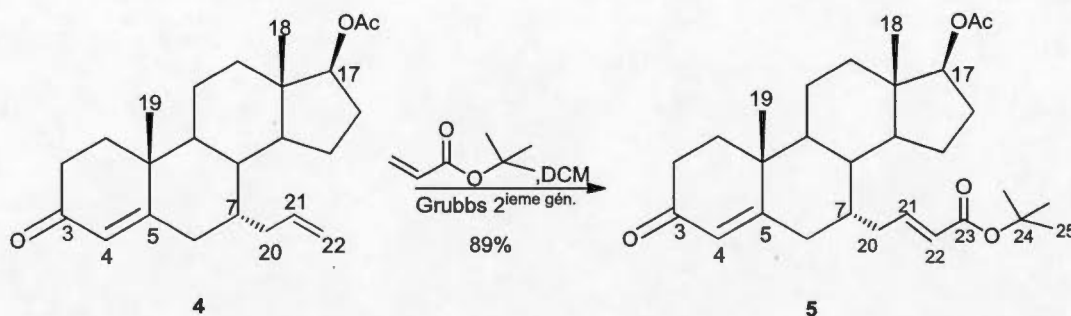


Figure 3.6 Synthèse de l'ester *tert*-butylique de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (5).

L'étape E (figure 3.7) consiste simplement en une déprotection du groupe *tert*-butyle par l'acide trifluoroacétique (TFA) dans du DCM. Cette réaction permet d'obtenir l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6) avec un rendement de 87 %.

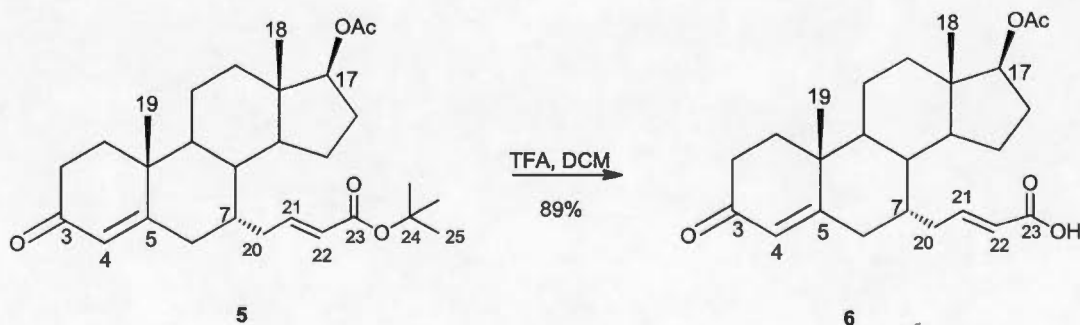


Figure 3.7 Synthèse de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6).

### 3.2 Synthèse des dimères de la testostérone modifiée

Le couplage des trois molécules, qui forment le dimère respectif, est l'estérification entre le groupe acide de deux stéroïdes et le groupe hydroxyle du diol. Il est important de choisir une estérification qui se déroule sous des conditions réactionnelles très douces. La meilleure méthode pour la synthèse des dimères est l'estérification à l'aide du *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et du 4-pyrrolidinopyridine (4-PPy) à température ambiante. Cette méthode est souvent utilisée pour coupler des acides carboxyliques plus encombrés avec un bon rendement sous des conditions très douces.

Le mécanisme de ce couplage est présenté ci-dessous à la figure 3.8.

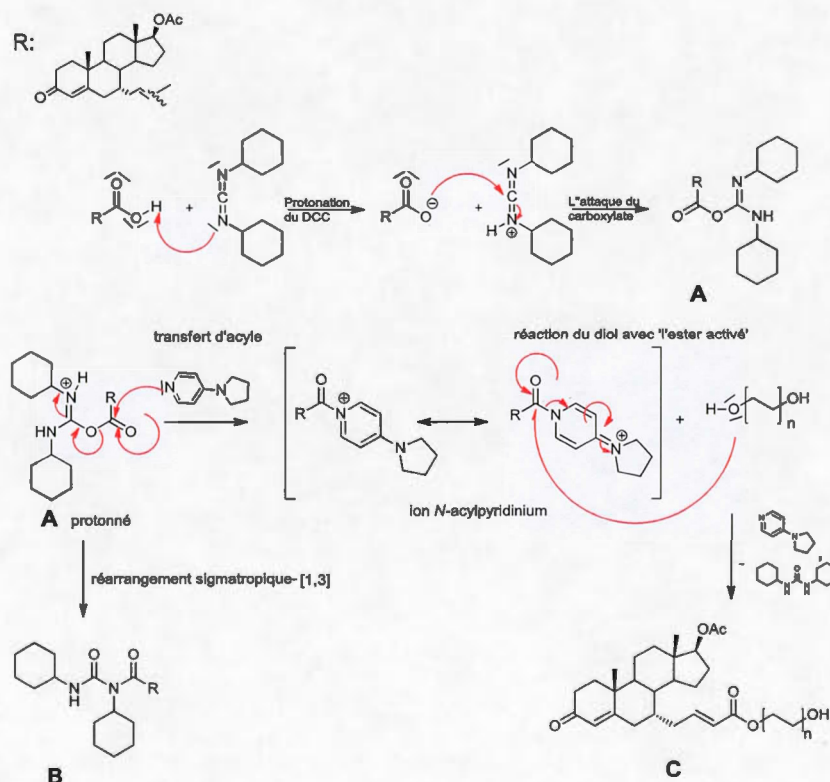


Figure 3.8 Mécanisme de l'estérification à l'aide du DCC et du catalyseur 4-PPy (modifiée de Steglich et Neises, 1978).

Après la protonation du DCC, le groupe carboxylique de l'acide réagit avec une des deux doubles liaisons C=N du DCC, en formant l'intermédiaire O-acylurée (**A**). Cet intermédiaire possède une plus grande réactivité que l'acide carboxylique pour le couplage avec le diol. La réactivité d'O-acylurée est comparable à celle d'un anhydride. Malheureusement, cet intermédiaire a tendance à se convertir en N-acylurée par un réarrangement sigmatropique-[1,3] (**B**). Pour éviter ce transfert d'urée, une quantité catalytique du 4-PPy est ajoutée au mélange réactionnel. Le catalyseur a pour but d'accélérer l'estérification afin d'inhiber la formation du produit secondaire. Le catalyseur est plus nucléophile que le diol et réagit avec (**A**) en formant « l'ester activé », l'ion de N-acylpyridinium. Cette molécule ne forme pas de produits secondaires et réagit rapidement avec le diol en formant l'ester désiré (**C**). La dernière étape du mécanisme est la formation de N,N-dicyclohexylurée (DCU) avec la molécule d'eau qui est libérée pendant l'estérification (Steglich et Neises, 1978).

### 3.2.1 Les dimères à base de connecteurs aliphatiques

Cette série de dimères a pour but de vérifier l'influence de la longueur de la chaîne méthylène ( $-\text{CH}_2-$ ) sur l'activité antiproliférative. Les dimères sont synthétisés à l'aide des diols aliphatiques, dont la longueur de la chaîne varie de deux à huit groupements méthylènes ( $-\text{CH}_2-$ ). La figure 3.9 décrit le déroulement de la réaction. L'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**6**) est solubilisé dans du DCM à la température de la pièce. Le DCC et le catalyseur sont ajoutés, suivie par le diol, selon la longueur désirée de la chaîne. La progression de la réaction a été contrôlée par chromatographie sur couche mince (CCM).

Initialement, le mélange réactionnel contient principalement le monomère **A**, où la première sous-unité est liée au connecteur. Le dimère **B** est seulement présent en faible quantité. Nous avons observé que la double estérification directe du diol en présence de deux équivalents d'acide **6** est lente. Ainsi, nous avons préconisé la

formation initiale du monomère **A** en présence d'un excès de diol. Par la suite, en répétant la réaction d'estérification avec le monomère **A** et un autre équivalent de l'acide **6** dans la deuxième étape, le dimère **B** est formé en plus grande quantité.

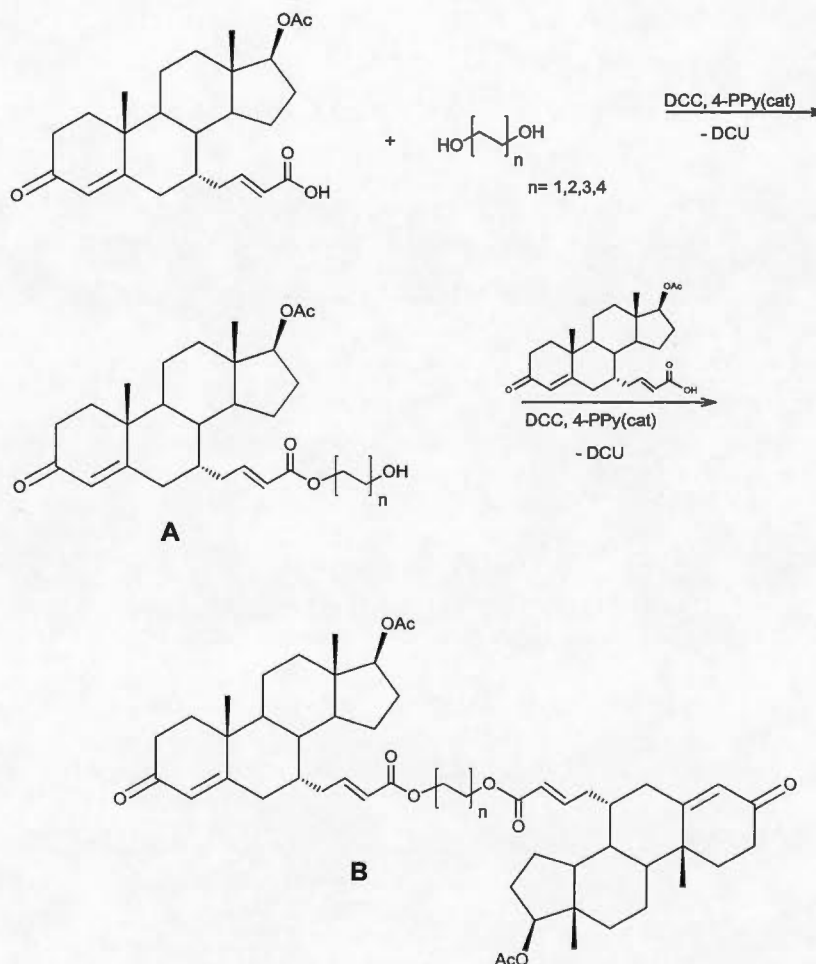


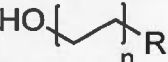
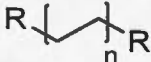
Figure 3.9 La synthèse des dimères à base de connecteurs aliphatiques.

De cette façon, nous avons obtenu les quatre monomères et les quatre dimères désirés. Il faut noter que l'avantage d'avoir les monomères intermédiaires est que l'on peut comparer leurs activités antiprolifératives avec celles des dimères correspondants. Les spectres de RMN- $^1\text{H}$ , RMN- $^{13}\text{C}$  et IR nous permettent de les distinguer entre eux. Même si les différences entre les spectres de monomères et de dimères sont relativement petites, il y a des signaux significatifs qui permettent la

différenciation entre les deux molécules. Le monomère et son dimère correspondant possèdent des spectres très similaires, car ce sont des molécules très semblables, quant à la structure et aux groupes fonctionnels. La seule différence est le groupe hydroxyle du monomère qui est responsable pour un signal de plus correspondant aux protons vicinaux du groupe hydroxyméthyle ( $-\text{CH}_2\text{OH}$ ) et le signal du proton alcool dans le spectre RMN- $^1\text{H}$  et IR. Les dimères possèdent une symétrie  $\text{C}_2$  et pour cette raison, ils ne présentent pas de dédoublement de signaux dans le spectre. L'indice de la formation du dimère est la disparition des signaux de groupement  $-\text{CH}_2\text{OH}$  du monomère dans le RMN- $^1\text{H}$  et un signal de moins dans le RMN- $^{13}\text{C}$ . Le tableau 3.1 présente de manière synthétique les signaux caractéristiques de chaque paire de molécules de cette série de dimères. Alors que les carbones de la chaîne liante ont des valeurs différentes dans le RMN- $^{13}\text{C}$  des monomères, ils ont la même valeur au niveau des molécules dimériques à cause de leur symétrie.

Tableau 3.1

Les signaux caractéristiques des monomères et des dimères synthétisés avec une connexion aliphatique dans du  $\text{CDCl}_3$

Longueur de la chaîne liante	Monomères 		Dimères 	
	RMN- $^1\text{H}$ (ppm)	RMN- $^{13}\text{C}$ (ppm)	RMN- $^1\text{H}$ (ppm)	RMN- $^{13}\text{C}$ (ppm)
n = 1	-CH <sub>2</sub> OH à 3,86 -CH <sub>2</sub> -R à 4,27	61,22 66,26	-CH <sub>2</sub> -R à 4,27	62,12
n = 2	-CH <sub>2</sub> OH à 3,66 -CH <sub>2</sub> -R à 4,20	62,26 64,19	-CH <sub>2</sub> -R à 4,16	63,87
n = 3	-CH <sub>2</sub> OH à 3,64 -CH <sub>2</sub> -R à 4,12	61,80 64,13	-CH <sub>2</sub> -R à 4,1	64,33
n = 4	-CH <sub>2</sub> OH à 3,62 -CH <sub>2</sub> -R à 4,10	62,91 64,51	-CH <sub>2</sub> -R à 4,1	62,11

R = noyau stéroïdien modifié



### 3.2.2 Les dimères à base de connecteurs aromatiques

Cette série de dimères a pour but de vérifier l'influence de la géométrie de la connexion sur l'activité antiproliférative. Les dimères sont synthétisés à l'aide de diols aromatiques substitués différemment (*ortho*, *méta*, et *para*). La figure 3.10 illustre le schéma réactionnel utilisé pour fabriquer les dimères aromatiques. Il s'agit ici des mêmes types de réactions décrites à la section précédente. L'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**6**) est solubilisé dans du DCM à la température ambiante. Le DCC et le catalyseur sont ajoutés, suivis par le diol aromatique approprié. La progression de la réaction a été contrôlée par chromatographie sur couche mince (CCM). Initialement, le monomère **A** est formé. En répétant la réaction avec le monomère et un autre équivalent de l'acide **6**, le dimère **B** est formé.

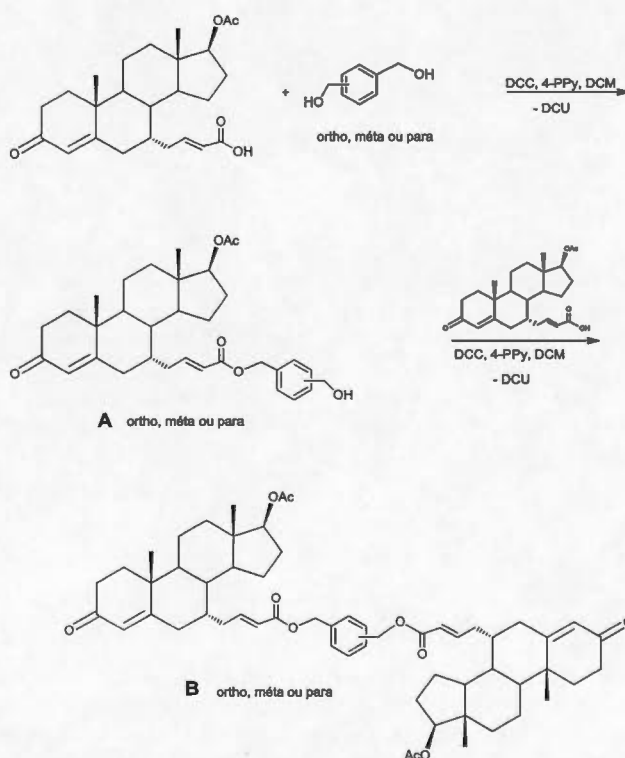
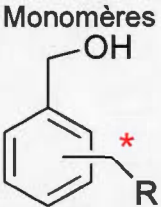
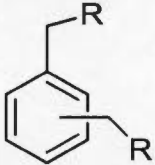


Figure 3.10 Schéma réactionnel pour la formation des dimères à base de connecteurs aromatiques.

De cette façon, on obtient trois monomères A et les trois dimères correspondants. Les caractéristiques chimiques et physiques de ces molécules sont encore une fois très semblables étant donné les similarités structurelles et la symétrie du dimère. Toutefois, les monomères présentent des signaux additionnels dans les spectres RMN- $^1\text{H}$  et IR à cause de la présence de la fonction hydroxyméthyle ( $-\text{CH}_2\text{OH}$ ). Le spectre RMN- $^{13}\text{C}$  du dimère possède un signal de moins en comparaison avec son monomère correspondant. La symétrie bilatérale est responsable de cet effet, car les molécules, en possédant une symétrie comme la symétrie  $\text{C}_2$ , ne montrent pas un dédoublement des signaux. Les signaux caractéristiques qui permettent de différencier le monomère et le dimère sont présentés au tableau 3.2.

Tableau 3.2

Les signaux caractéristiques des monomères et des dimères synthétisés avec une connexion aromatique dans du  $\text{CDCl}_3$

chaîne liante	Monomères		Dimères	
				
	RMN- $^1\text{H}$ (ppm)	RMN- $^{13}\text{C}$	RMN- $^1\text{H}$ (ppm)	RMN- $^{13}\text{C}$
<i>Ortho</i>	-CH <sub>2</sub> OH à 4,61 -CH <sub>2</sub> -R à 5,29	63,98 64,21	-CH <sub>2</sub> -R à 5,29	63,98
<i>Méta</i>	-CH <sub>2</sub> OH à 4,61 -CH <sub>2</sub> -R à 5,29	64,88 66,00	-CH <sub>2</sub> -R à 5,29	63,98
<i>Para</i>	-CH <sub>2</sub> OH à 4,61 -CH <sub>2</sub> -R à 5,29	63,98 65,64	-CH <sub>2</sub> -R à 5,22	63,98

R = noyau stéroïdien modifié

Il est intéressant de constater que, dans les trois cas (régioisomères *ortho*, *méta* et *para*), le déplacement chimique du triplet de deux hydrogènes en alpha de l'ester se trouve à 5,2 ppm, indépendamment du modèle de substitution (l'étoile rouge au

tableau). Mais encore, il semblerait que l'influence du noyau aromatique soit responsable de cet effet. Les monomères et les dimères se distinguent toutefois par des signaux très caractéristiques pour chaque modèle de substitution du noyau aromatique.

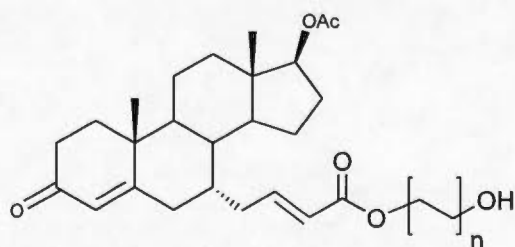
En général, on peut conclure que les spectres des dimères et leurs sous-unités monomériques sont très semblables. Il s'agit des mêmes fonctionnalités que l'on retrouve aussi bien sur les dimères que les monomères sauf la présence d'un hydroxyméthyle au niveau des monomères. Comme nous le verrons un peu plus loin, la façon d'effectuer la connexion de deux sous-unités de la T, ainsi que les propriétés chimiques de cette connexion, la longueur de la chaîne ou bien l'orientation spatiale des sous-unités, peuvent altérer l'activité antiproliférative et les caractéristiques des dimères synthétisés (Nahar et Sarker, 2012).

### 3.3 Activité biologique

Les molécules qui sont soumises à des analyses biologiques de prolifération cellulaire via le test SRB (Sulforhodamine B) sont les monomères et les dimères de la série à base de connexions aliphatiques. Les composés synthétisés sont testés sur sept lignées cellulaires cancéreuses différentes telles la lignée HT-29 (cancer du côlon humain), la lignée M21 (mélanome humain), la lignée MCF-7 (cancer du sein humain estrogéno-dépendant), la lignée MDA-MB-231 (cancer du sein humain estrogéno-indépendant) et trois lignées cellulaires du cancer de la prostate, la DU-145, la LNCaP et la PC3. La DU-145 et la PC3 sont deux lignées cellulaires cancéreuses androgéno-indépendantes (RA-) et la LNCaP est une lignée cellulaire cancéreuse androgéno-dépendante (RA+). L'acétate de cyprotérone (CPA), un antiandrogène utilisé en clinique, est testé comme composé de référence pour permettre de comparer l'activité biologique des nouveaux composés synthétisés.

Le test de cytotoxicité avec la sulforhodamine B (SRB), décrit initialement en 1990 par Skehan *et al.*, évalue l'activité cytotoxique et cytostatique de nouvelles

drogues antitumorales. Le 2-(3-diéthylamino-6-diéthylazaniumylidène-xanthèn-9-yl)-5-sulfo-benzènesulfonate (SRB) est un colorant aminoxanthène anionique rose lumineux avec deux groupes sulfoniques. Le SRB est capable de former des complexes électrostatiques avec des résidus des acides aminés des protéines dans des cellules sous des conditions acides modérées. Le développement de la coloration est rapide et on peut mesurer l'absorbance à 564 nm (Skehan, 1990). Les essais de prolifération cellulaire *in vitro* ont été réalisés au laboratoire du Centre de recherche du CHU de Québec par l'équipe du Professeur René C.-Gaudreault. Les cellules étaient préalablement incubées pendant une durée de 24 ou 48 h sous une atmosphère composée à 95 % d'air et 5 % de CO<sub>2</sub> avant les traitements avec les nouveaux composés à diverses concentrations (dilution séquentielle de 200 µM à 1 µM) (Barbosa *et al.*, 2014). Le tableau 3.3 donne les valeurs d'IC<sub>50</sub> (µM) de toutes les molécules testées sur les trois lignées cellulaires du cancer de la prostate. Selon FDA (*Food and Drug Administration*), l'IC<sub>50</sub>, la concentration inhibitrice médiane, représente la concentration d'un médicament qui est requise pour réduire de 50 % la croissance des cellules *in vitro* (CDER, 2006). En d'autres termes, plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus le composé est actif. La figure 3.11 montre les composés synthétisés et testés avec le code utilisé au tableau 3.3. **A** représente tous les monomères avec la longueur de la chaîne variable (n). **B** représente tous les dimères avec la longueur de la chaîne variable (n).



**A**

dénomination des composés:

**A-1** avec  $n = 1$

**A-2** avec  $n = 2$

**A-3** avec  $n = 3$

**A-4** avec  $n = 4$

dénomination des composés:

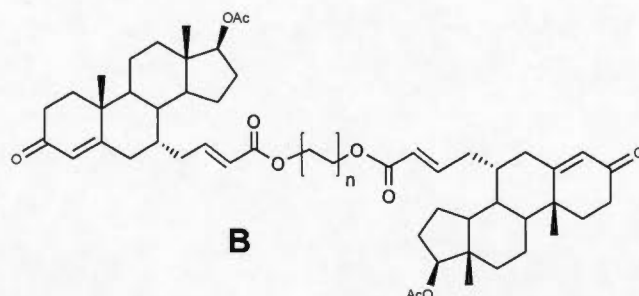
**B-1** avec  $n = 1$ **B-2** avec  $n = 2$ **B-3** avec  $n = 3$ **B-4** avec  $n = 4$ 

Figure 3.11 Molécules correspondantes au tableau 3.3.

Tableau 3.3

Valeurs des  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) des diverses molécules testées (**6**, CPA, **A-1** à **4** et **B-1** à **4**) sur trois lignées cellulaires du cancer de la prostate

Composé	DU-145 (RA-) $IC_{50}$ ( $\mu M$ )	PC3 (RA-) $IC_{50}$ ( $\mu M$ )	LNCaP (RA+) $IC_{50}$ ( $\mu M$ )
<b>Acide (6)</b> (sous-unité de base)	> 200	> 200	196
<b>CPA</b> acétate de cyprotérone	98	85	44
<b>A-1</b>	120	132	57
<b>A-2</b>	51	50	33
<b>A-3</b>	54	54	28
<b>A-4</b>	80	71	31
<b>B-1</b>	1.4	1.8	3.8
<b>B-2</b>	> 200	> 200	17
<b>B-3</b>	196	> 200	76
<b>B-4</b>	> 200	> 200	29

Premièrement, l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**6**), comme précurseur pour la synthèse des monomères et des dimères, ne possède pas d'activité antiproliférative ni envers les lignées androgéno-

indépendantes, ni envers la lignée androgéno-dépendante. Les monomères **A-2** et **A-3** dont la longueur de la chaîne se situe à quatre ou six carbones donnent des valeurs d' $IC_{50}$  entre 50  $\mu M$  à 54  $\mu M$ . Ils se comparent ainsi avantageusement par rapport aux valeurs d' $IC_{50}$  de 98  $\mu M$  ou 85  $\mu M$  de l'antiandrogène CPA pour les lignées androgéno-indépendantes (RA-). On observe la même tendance d'activité antiproliférative envers la lignée cancéreuse androgéno-dépendante LNCaP (RA+) avec 33  $\mu M$  et 28  $\mu M$  en comparant à 44  $\mu M$  pour le CPA. Le monomère avec un connecteur de deux carbones (**A-1**) ne montre pas d'activité sur les lignées RA- (120 et 132  $\mu M$ ) et juste une faible activité envers la lignée du RA+ (57  $\mu M$ ). Le monomère avec la plus longue chaîne liante de huit carbones (**A-4**) montre des valeurs de 80  $\mu M$  et 71  $\mu M$ , respectivement sur les cancers androgéno-indépendants (RA-) et de 31  $\mu M$  sur la lignée androgéno-dépendante (RA+). Cela représente une meilleure activité antiproliférative que le CPA, mais il est moins actif que les monomères **A-2** et **A-3**. Bien que le monomère **A-1** porteur d'une chaîne liante de deux carbones ne possède pas d'activité antiproliférative importante, le dimère correspondant **B-1** possède la meilleure activité de toutes les molécules synthétisées. Avec des  $IC_{50}$  de 1.4  $\mu M$  sur la lignée DU145 et de 1.8  $\mu M$  sur la PC3, ce dimère est presque 100 fois plus efficace que le CPA. L'efficacité du dimère **B-1** sur la lignée LNCaP (RA+) est de 3.8  $\mu M$ , environ 10 fois plus élevée que celle de CPA (44  $\mu M$ ). Tous les autres dimères (**B-2**, **B-3**, **B-4**) ne possèdent aucune activité antiproliférative envers les lignées cellulaires androgéno-indépendantes, DU145 et PC3. Cependant, ils montrent une activité sélective envers la lignée cellulaire LNCaP (RA+) avec des valeurs d' $IC_{50}$  variant de 17  $\mu M$  à 76  $\mu M$ . Ces dimères pourraient possiblement agir comme antiandrogènes contre le cancer de la prostate androgéno-dépendant. Aussi, il faut indiquer que le dimère **B-2** est environ 2,6 fois plus actif que le CPA sur la lignée cellulaire LNCaP (AR+).

Après avoir comparé les monomères et les dimères entre eux, nous allons maintenant comparer l'activité du monomère avec son dimère correspondant. Ici, il est très intéressant de constater que les monomères sont plus actifs envers les



lignées cellulaires de RA- alors que les dimères sont inactifs, à l'exception du dimère **B-1** ( $n = 2$ ). Ceci nous indique que la longueur de chaîne liante de deux carbones sur **B-1** est optimale pour l'activité antiproliférative sur toutes les cellules testées. D'autre part, on observe que les monomères et les dimères sont actifs sur cellules cancéreuses LNCaP (RA+). Il est important de mentionner qu'il n'y a pas de corrélation directe entre la longueur de la chaîne liante et l'activité antiproliférative.

Le dimère **B-1** possède la plus grande activité antiproliférative de toutes les molécules synthétisées. En plus, il possède la meilleure activité envers les deux types des lignées cellulaires cancéreuses, le DU-145 et PC3 comme représentants de cancers de la prostate androgéno-indépendants et le LNCaP, qui représente le cancer de la prostate androgéno-dépendant. C'est la raison pour laquelle nous avons testé davantage ce dimère sur d'autres lignées cellulaires cancéreuses humaines. Les lignées testées sont les suivantes : l'HT-29 (cancer du côlon humain), le M21 (mélanome humain), le MCF-7 (cancer du sein humain estrogéno-dépendant (RE+)) et le MDA-MB-231 (cancer du sein humain estrogéno-indépendant (RE-)). En plus, aux fins de comparaison, les trois lignées du cancer de la prostate, déjà discutées au tableau 3.3, sont indiquées au tableau 3.4. Les résultats pour le CPA, un des antiandrogènes utilisés en clinique, sont aussi indiqués dans ce tableau.

Tableau 3.4

Valeurs des  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) du dimère **B-1** et du CPA sur sept lignées cellulaires cancéreuses humaines

Composé	HT-29 $IC_{50}$ ( $\mu M$ )	M21 $IC_{50}$ ( $\mu M$ )	MCF-7 $IC_{50}$ ( $\mu M$ )	MDA-MB -321 $IC_{50}$ ( $\mu M$ )	DU-145 $IC_{50}$ ( $\mu M$ )	PC3 $IC_{50}$ ( $\mu M$ )	LNCaP $IC_{50}$ ( $\mu M$ )
<b>B-1</b>	8,6	151	4,4	> 200	1,4	1,8	3,8
<b>CPA</b>	18	41	45	111	98	85	44

Il est intéressant de constater que le dimère **B-1** possède une activité biologique remarquable sur d'autres types de cellules cancéreuses. Comme indiqué dans le

tableau 3.4, le dimère possède une activité envers la lignée cellulaire du cancer du sein estrogéno-dépendant MCF-7 avec un  $IC_{50}$  de  $4,4 \mu M$  sans avoir d'activité envers la lignée estrogéno-indépendante, MDA-MB-231 ( $IC_{50} > 200 \mu M$ ). La même tendance d'activité se retrouve pour l'acétate de cyprotérone (CPA), mais c'est beaucoup moins prononcé. **B-1** est plus de 45 fois plus actif sur les cellules MCF-7 vs les cellules MDA-MB-231, en comparaison avec 2,5 fois plus actif sur ces deux mêmes cellules pour le CPA. Le dimère **B-1** montre une activité intéressante de  $8,6 \mu M$  sur les cellules du colon humain, HT-29. D'autre part, ce dimère n'est pas actif sur le mélanome humain M21 avec un  $IC_{50}$  de seulement  $151 \mu M$ .

## CHAPITRE IV

### CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le premier objectif de ce travail était d'évaluer le potentiel de molécules dimériques à base de testostérone dans l'hormonothérapie contre le cancer de la prostate. Les travaux de la littérature indiquaient que les dimères stéroïdiens peuvent offrir des propriétés biologiques importantes dans la thérapie anticancéreuse comme les cephalostatins et leurs analogues (Nahar et Sarker, 2007) ou d'autres, déjà présentés dans des chapitres précédents. Bastien a synthétisé des dimères stéroïdiens à base de testostérone en liant les deux sous-unités androgéniques sur elles-mêmes grâce à la métathèse de Grubbs. Il s'agit des isomères *cis* et *trans* du 1-(17 $\beta$ -acétoxyandrost-4-ène-3-one-7 $\alpha$ -yl)-4-[17 $\beta$ -acétoxyandrost-4-ène-3-one-7 $\alpha$ -yl]-but-2-ène avec une structure rigide entre les sous-unités androgéniques (Bastien, 2008). Les résultats des tests antiprolifératifs ont montré que la géométrie de la molécule influence l'activité antiproliférative : l'isomère *cis* possède une plus grande cytotoxicité que l'isomère *trans* (Bastien, 2008). En ajoutant une chaîne de longueur variable entre les deux sous-unités de testostérone, on était capable d'observer l'influence de ces changements constitutionnels sur la relation entre la structure et l'activité antiproliférative des nouveaux dimères.

La molécule de départ, l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**6**) ne montre pas d'activité biologique importante. Toutefois, lorsqu'on lui ajoute une chaîne liante, les « monomères » obtenus possèdent déjà une activité antiproliférative intéressante. Ils sont plus actifs envers les lignées cellulaires androgéno-indépendantes, la DU-145 et la PC3 (RA-). Cependant les dimères que nous avons synthétisés en ajoutant une deuxième molécule de l'acide *trans*-4-

(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**6**) au monomère (**6** avec le connecteur correspondant), possèdent une activité plus importante envers la lignée cellulaire androgéno-dépendante, la LNCaP (AR+). Ces dimères pourraient agir comme antiandrogènes contre le cancer de la prostate androgéno-dépendant. Il est cependant important de mentionner qu'il n'y a pas de corrélation directe entre l'activité biologique et la longueur de la chaîne liante des dimères étudiés.

Bien qu'il n'y ait pas de corrélation précise entre la longueur de la chaîne liante et l'activité biologique, on peut constater que le dimère avec une chaîne de deux carbones (**B-1**) montre la meilleure activité de toutes les molécules dimériques testées. En comparant avec le CPA, la molécule de référence, ce dimère est presque 100 fois plus efficace sur les lignées cellulaires androgéno-indépendantes, DU-145 et PC3, et environs 10 fois plus actifs sur la lignée androgéno-dépendante, LNCaP. Ceci nous indique que la longueur de chaîne liante de deux carbones est optimale pour l'activité antiproliférative et cela, sur toutes les lignées cellulaires testées. En plus, ce dimère possède une activité biologique remarquable sur d'autres types de cellules cancéreuses comme les lignées cellulaires du cancer du sein, MCF-7 et MDA-MB-231, et la lignée cellulaire du cancer du côlon humain, HT-29. Concernant les lignées tumorales du cancer du sein, l'activité antiproliférative de ce dimère montre une sélectivité intéressante sur la lignée cellulaire MCF-7 (estrogéno-dépendantes), étant 45 fois plus actif par rapport des cellules cancéreuses estrogéno-indépendantes MDA-MB-231.

Pour ce qui est de la série de dimères avec un connecteur aromatique, on peut constater qu'il est possible de les fabriquer. Par contre, la synthèse de ces dimères doit être améliorée davantage compte tenu des faibles rendements obtenus. La réactivité réduite des diols aromatiques par rapport des diols aliphatiques en plus d'un encombrement stérique plus important fait qu'il est difficile de les fabriquer. Particulièrement difficile est la synthèse des dimères avec les connecteurs aromatiques *ortho* et *méta*. En effet, nous avons eu de la difficulté à former ces dimères avec la pureté désirée.

En termes de prolongement et de perspectives de ce travail, plusieurs points méritent d'être mentionnés :

- On peut constater que nous avons réussi à trouver une réaction facile et rapide pour synthétiser les deux séries de dimères via l'estérification de diols. La synthèse en deux étapes est nécessaire pour former les dimères avec de bons rendements. L'avantage de cette méthode est que nous avons eu accès aux « monomères » et que nous avons pu comparer leurs activités antiprolifératives avec celles des dimères correspondants.
- En plus, la synthèse du 7 $\alpha$ -allyl-androst-4-ène-17 $\beta$ -ol-3-one, comme précurseur, nous permet d'ajouter facilement une autre fonctionnalité par métathèse croisée de Grubbs, pour obtenir un acide  $\alpha$ - $\beta$ -insaturé. La chaîne *trans*-2-buténoïque se situe au centre de la T (sur le C-7) laissant libre les fonctionnalités sur les deux têtes de T nécessaires pour se lier au récepteur des androgènes.
- Il demeure essentiel de mesurer l'activité biologique de dimères liés par des connecteurs aromatiques afin de vérifier la relation entre la structure et l'activité biologique de cette série de composés.
- Sur la base des résultats obtenus avec la série des dimères aliphatiques, on peut constater que les dimères ont des propriétés chimiques et biologiques différentes par rapport aux « monomères » correspondants. En effet, ils peuvent présenter une activité antiproliférative supérieure et/ou une sélectivité accrue sur différents types de cellules.

Les principaux facteurs à considérer lors de la synthèse de molécules dimériques sont : 1) le choix du bras de liaison et 2) l'utilisation d'une réaction efficace et douce pour former le dimère. Nous avons constaté que des changements structurels très minimes peuvent influencer l'activité biologique d'un dimère. Ces différences d'activité ne sont pas toujours faciles à expliquer. C'est la raison pour laquelle d'autres tests devront être effectués telle l'affinité des dimères envers le RA et l'activité androgénique/antiandrogénique de ces nouveaux composés. Éventuellement, des diamines aliphatiques seront utilisées à la place des diols

aliphatiques pour fabriquer d'autres dimères de la testostérone liés par des liaisons amides, plus stables en milieu physiologique. On peut conclure que la synthèse des composés dimériques mérite d'être étudiée puisque ce type de molécule pourrait conduire à la découverte de traitements alternatifs et/ou complémentaires du cancer de la prostate.



## CHAPITRE V

### SECTION EXPÉRIMENTALE

#### 5.1 Remarques générales

Pour la plupart des réactions, le DCM de marque Fisher ou Sigma-Aldrich a été utilisé. Il est séché avec le sulfate de magnésium avant son utilisation (Armarego et Lin Chai, 2003). Les réactions sont effectuées sous atmosphère d'azote pour conserver un milieu anhydride. Les produits commercialement disponibles ont été acquis chez les compagnies Aldrich ou Acros Organics et ont été utilisés sans purification additionnelle. Le butane-1,4-diol, le 1,2-benzène-diméthanol, le 1,3-benzène-diméthanol et le 1,4-benzène-diméthanol ont été acquis chez la compagnie Aldrich tout comme le DCC et le 4-PPy. L'éthane-1,2-diol, l'hexane-1,6-diol et l'octane-1,8-diol ont été achetés chez la compagnie Acros Organics. La T était un produit de la compagnie Steraloids Inc. Les solvants utilisés pour l'étape de la purification, de marque Fisher ou Aldrich, sont préalablement distillés. Il s'agit d'acétone ou d'hexanes (le pluriel est utilisé pour indiquer le mélange des isomères de six carbones). Ce mélange d'isomères est approprié comme solvant pour la chromatographie éclair. De plus, il est moins toxique que l'hexane normal.

La chromatographie sur couche mince (CCM) est utilisée pour suivre l'avancement des réactions. Les plaques en verre sont recouvertes d'une couche de gel de silice de 0,25 mm d'épaisseur de la marque Sigma T 6145, 60 Å. La chromatographie sur

couche mince est une méthode physique de séparation du mélange réactionnel en ses composantes, basée sur les différences d'affinité/polarité des composés à l'égard de la phase stationnaire et de la phase mobile (éluant). Un mélange de solvants hexanes/acétone, dans des proportions différentes selon la polarité des produits, est utilisé comme éluant. À l'aide d'une source de radiation UV à 254 nm, les constituants du mélange réactionnel, en absorbant la lumière, deviennent visibles sous forme des taches foncées.

Une fois la réaction terminée, le mélange réactionnel est traité en plusieurs étapes. Le parachèvement débute par l'étape d'extraction. Cette étape consiste à isoler le produit recherché du brut réactionnel. La phase organique est lavée dans une ampoule à décantation avec des solutions aqueuses saturées en sel, des solutions acides/basiques ou simplement de l'eau. Après, à l'aide de sulfate de magnésium ou de sulfate de sodium, la phase organique, contenant le produit, est séchée, filtrée et évaporée sous vide avec un évaporateur rotatif. La dernière étape du parachèvement consistait à un autre séchage, cette fois-ci, à l'aide d'une pompe à vide pour s'assurer que le produit brut est complètement sec. Presque tous les produits ont eu besoin d'une purification additionnelle pour s'assurer de leur pureté. Cette purification était effectuée par la chromatographie éclair (Still *et al.*, 1978) ou par la chromatographie sur couche mince préparatoire.

- Chromatographie sur colonne (chromatographie éclair)

La silice de maille de 40-63  $\mu\text{m}$  de la compagnie Silicycle est utilisée pour la chromatographie sur colonne. La silice était équilibrée avec le système d'élution avant d'être déposée dans la colonne. Tous les produits à purifier étaient absorbés sur silice à l'aide de dichlorométhane puis évaporés à sec. La poudre obtenue était introduite prudemment en tête de colonne. L'élution des composés était accélérée par la mise du système sous légère pression d'air. L'éluant était ensuite fractionné afin de récupérer le produit pur désiré. En évaporant le solvant, le produit pur a été obtenu.

- Chromatographie sur couche mince préparatoire

Les plaques utilisées, préfabriquées de la compagnie Silicycle avec une couche uniforme de gel de silice (60 Å) de 2 mm d'épaisseur, avaient une dimension de 20 cm × 20 cm. Un mélange de solvants hexanes/acétone, dans des proportions différentes selon la polarité des produits, est utilisé comme éluant. En exposant la plaque à une source de radiation UV à 254 nm, les constituants de mélange réactionnel, maintenant séparés, sont révélés comme des zones sur la plaque. La section, contenant le produit désiré, est grattée prudemment de la plaque et ensuite désabsorbée de la silice à l'aide d'un éluant. Après l'évaporation du solvant, le produit pur a été obtenu.

Enfin, les étapes d'analyses permettaient de contrôler la structure et la pureté du produit synthétisé.

Les points de fusion ont été mesurés avec un appareil Électrothermie IA9100.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN-<sup>1</sup>H et RMN-<sup>13</sup>C) ont été réalisés avec un appareil Varian de 200 MHz. Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en ppm par rapport à une référence interne provenant du solvant résiduel non deutéré. Tous les spectres sont effectués dans du CDCl<sub>3</sub> comme solvant. Les constantes de couplages (J) sont exprimées en Hertz (Hz). La multiplicité des spectres RMN-<sup>1</sup>H a été décrite par les abréviations suivantes : s (singulet), d (doublet), t (triplet) et m (multiplet).

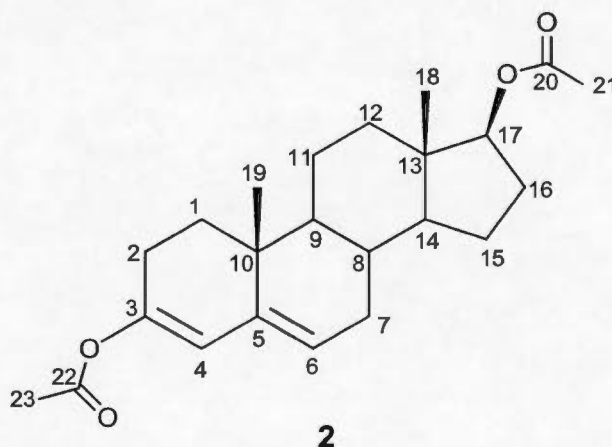
Les spectres infrarouges (IR) ont été obtenus en utilisant un spectrophotomètre FTIR Thermo iS10. Les produits à analyser sont déposés directement sur la pointe en diamant de l'appareil. Les bandes d'absorption ( $\nu$ ) sont exprimées en cm<sup>-1</sup>. L'intensité des signaux en IR a été décrite par les abréviations suivantes : i (intense), m (moyen) et f (faible).

Les spectres de masse haute résolution ont été enregistrés sur un système de chromatographie liquide à haute performance 1200 (CLHP) couplé à un spectromètre de masse en utilisant un détecteur TOF 6210 de la compagnie Agilent Technologies à NanoQAM, Montréal.

## 5.2 Synthèse de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6)

Les structures des molécules **2** à **6** décrites dans cette section, ont été confirmées seulement par le spectre RMN-<sup>1</sup>H. Il s'agit de molécules déjà connues du groupe de recherche de Professeur Gervais Bérubé (Bastien, 2008; Morin, 2013).

### 5.2.1 Diacétate d'andosta-3,5-diène-3,17 $\beta$ -diol (**2**)

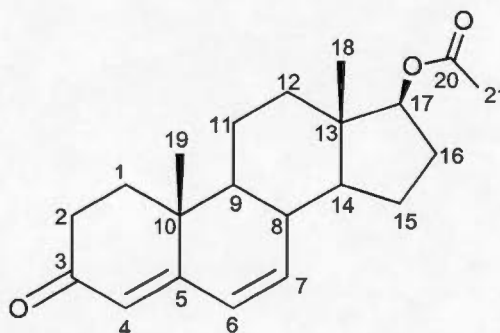


La T (**1**) (5,00 g, 0,017 mol) est dissoute dans le chlorure d'acétyle (20 mL, 53 mmol) et ensuite, l'anhydride acétique (8,19 mL, 0,086 mol) est ajouté. Par la suite, la pyridine (1,68 mL, 0,021 mol) est ajoutée au mélange réactionnel. Le mélange est porté à reflux jusqu'à disparition des produits de départ tel que détecté par chromatographie sur couche mince (environ 5 heures). On laisse le mélange refroidir lentement à température ambiante. Ensuite, les solvants sont évaporés à sec dans

un évaporateur rotatif suivi de la pompe à vide. Pour purifier le produit brut, il est solubilisé dans un minimum de DCM, et il est filtré sur une couche de silice de 5 cm avec le DCM comme éluant. On obtient 6,34 g de diacétate d'androsta-3,5-diène-3,17 $\beta$ -diol (**2**) avec un rendement de 97 %.

RMN- $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ), J (Hz) : 5,68 (1H, s, 4-CH), 5,36 (1H, m, 6-CH), 4,59 (1H, t, apparent, J = 8.2 Hz, 17-CH), 2,13 (3H, s, 23-CH $_3$ ), 2,04 (3H, s, 21-CH $_3$ ), 0,99 (3H, s, 19-CH $_3$ ), 0,81 (3H, s, 18-CH $_3$ ) et 2,50-0,50 (17H, # m, protons restants du stéroïde).

### 5.2.2 Acétate d'androsta-4,6-diène-17 $\beta$ -ol-3-one (**3**)



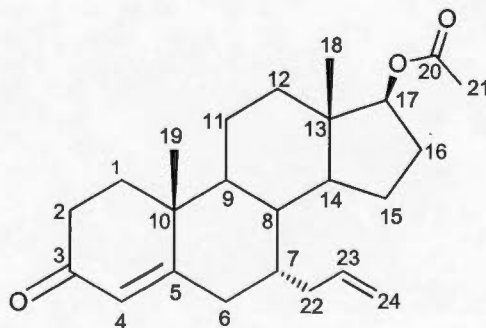
**3**

Le diacétate d'androsta-3,5-diène-3,17 $\beta$ -diol (**2**) (6,34 g, 0,017 mol) est solubilisé dans 100 mL DMF et 0,5 mL l'eau, laquelle est ajoutée pour améliorer la solubilisation. La solution est refroidie à 0 °C dans un bain de glace. À 0 °C, la NBS (3,40 g, 0,019 mol) est ajoutée, par petites quantités, pendant une période de 45 minutes. Lorsque toute la NBS est ajoutée, le mélange réactionnel est agité à 0 °C pour une autre période de 50 minutes. Après avoir laissé le mélange réactionnel réchauffer à température ambiante, le  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  (2,80 g, 0,038 mol) et le LiBr (1,63 g, 0,018 mol) sont ajoutés et puis le mélange est chauffé à 95 °C pour une

période de 3 heures. Ensuite le mélange est refroidi à température ambiante avant de verser sur une solution de 150 mL de mélange d'eau/glace et de 10 mL d'acide acétique glacial. Le tout est agité pour une nuit. Par la suite, on filtre le solide (précipité) avec de l'eau puis avec de l'hexane. Enfin, le solide est dissous dans l'éther, séché avec du  $\text{MgSO}_4$  et filtré. La dernière étape consiste à évaporer le solvant à sec dans un évaporateur rotatif suivi de pompe à vide pour obtenir le produit brut. Le produit brut est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 9,3 : 0,7). On obtient 4,75 g d'acétate d'androsta-4,6-diène-17 $\beta$ -ol-3-one (**3**), soit 86 % de rendement.

RMN- $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ), J (Hz) : 6,05 (2H, s, 6-CH et 7-CH), 5,62 (1H, s, 4-CH), 4,57 (1H, t apparent, J = 8,1 Hz, 17-CH), 2,00 (3H, s, 21-CH $_3$ ), 1,07 (3H, s, 19-CH $_3$ ), 0,83 (3H, s, 18-CH $_3$ ) et 2,50-0,50 (15H, # m, protons restants du stéroïde).

### 5.2.3 Acétate de 7 $\alpha$ -allyl-androst-4-ène-17 $\beta$ -ol-3-one (**4**)



**4**

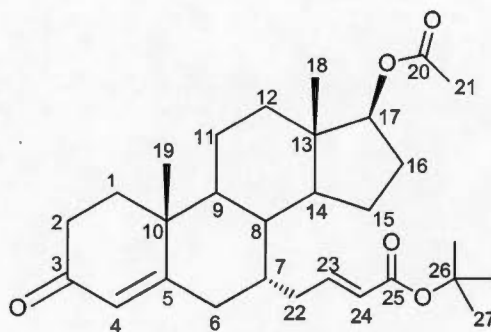
Sous atmosphère d'azote, l'acétate d'androsta-4,6-diène-17 $\beta$ -ol-3-one (**3**) (2,17 g, 6,6 mmol) est solubilisé dans 30 mL DCM sec. La solution est refroidie à -78 °C à l'aide d'azote liquide. La pyridine (0,7 mL, 8,65 mmol) est ajoutée, puis le  $\text{TiCl}_4$  (3,64 mL, 0,03 mol). Le mélange réactionnel est agité pendant 5 min à -78 °C avant d'ajouter TMS (10,53 mL, 0,06 mol) préalablement dissous dans 10 mL DCM sec.



Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h 30 à -78 °C et ensuite, on le laisse réchauffer à -30 °C, puis on agite pendant 1 h 15. Finalement, on laisse réchauffer le mélange réactionnel à température ambiante puis la solution bleu noire obtenue est diluée dans de l'éther et lavée plusieurs fois avec de l'eau. La phase organique est récupérée, séchée avec  $\text{MgSO}_4$ , filtrée et évaporée à sec. Après une purification par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 9,6 : 0,4), on obtient 1,74 g du stéroïde (**4**) avec un rendement 71 %.

RMN- $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ), J (Hz) : 5,51 (1H, s, 4-CH), 5,43 (1H, m, 23-CH=CH<sub>2</sub>), 4,89-4,75 (2H, m, 24-CH=CH<sub>2</sub>), 4,42 (1H, t apparent, J = 8,3 Hz, 17-CH), 1,85 (3H, s, 21-CH<sub>3</sub>), 1,07 (3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 0,83 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (20H, # m, protons restants du stéroïde).

#### 5.2.4 Ester *tert*-butylique de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**5**)



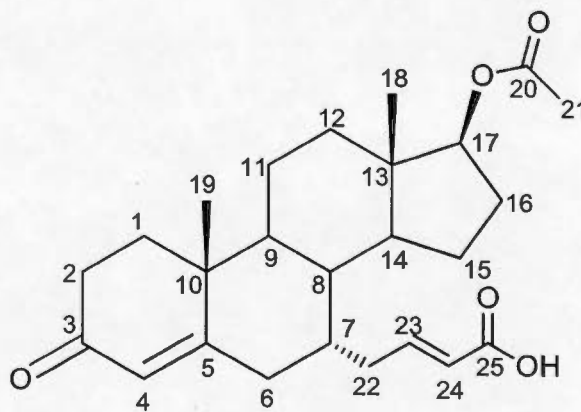
**5**

Sous atmosphère d'azote, l'acétate de 7 $\alpha$ -allyl-androst-4-ène-17 $\beta$ -ol-3-one (**4**) (0,594 g, 1,6 mmol) est dissous dans 5 mL DCM sec. Le catalyseur de Grubbs 2<sup>e</sup> génération (0,028 g, 0,03 mmol) préalablement dissous dans 2 mL DCM sec est ajouté à la solution de l'acétate de 7 $\alpha$ -allyl-androst-4-ène-17 $\beta$ -ol-3-one (**4**). Un excès de 2,4 mL (16,3 mmol) d'acrylate de *tert*-butyle est ajouté au mélange réactionnel.

La solution est portée au reflux jusqu'à disparition du produit de départ suivi par CCM. Ensuite, le mélange réactionnel est évaporé à sec. Le produit brut est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 9,3 : 0,7) permettant d'obtenir 0,651 g d'ester *tert*-butylique de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**5**) pour un rendement de 85 %.

RMN- $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ), J (Hz) : 6,70 (1H, m, 23-CH), 5,76-5,69 (1H, d, J = 15,1 Hz, 24-CH), 5,72 (1H, s, 4-CH), 4,61 (1H, t apparent, J = 8,2 Hz, 17-CH), 2,05 (3H, s, 21-CH $_3$ ), 1,48 (9H, s, 27-CH $_3$ ), 1,21 (3H, s, 19-CH $_3$ ), 0,85 (3H, s, 18-CH $_3$ ) et 2,50-0,50 (20H, # m, protons restants du stéroïde).

#### 5.2.5 Acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**6**)



**6**

L'ester *tert*-butylique de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**5**) (0,65 g, 1,38 mmol) est dissous dans 3 mL DCM avant d'ajouter l'acide trifluoroacétique (TFA, 1,07 mL, 14,4 mmol). La solution est agitée à la température de la pièce jusqu'à disparition du produit de départ tel que détecté par CCM. Lorsque la réaction est terminée, la solution est évaporée à sec pour donner une huile visqueuse. Cette huile est traitée avec un mélange d'hexanes et d'éther puis

éaporée. En répétant cette étape plusieurs fois, on obtient un solide qui est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 8 : 2). L'étape donne 0,525 g d'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**6**) pour un rendement de 92 %.

RMN- $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ), J (Hz) : 6,89 (1H, m, 23-CH), 5,86-5,78 (1H, d, J = 15,9 Hz, 24-CH), 5,74 (1H, s, 4-CH), 4,61 (1H, t apparent, J = 8,2 Hz, 17-CH), 2,04 (3H, s, 21-CH $_3$ ), 1,20 (3H, s, 19-CH $_3$ ), 0,84 (3H, s, 18-CH $_3$ ) et 2,50-0,50 (21H, # m, protons restants du stéroïde).

### 5.3 La synthèse des dimères de testostérone

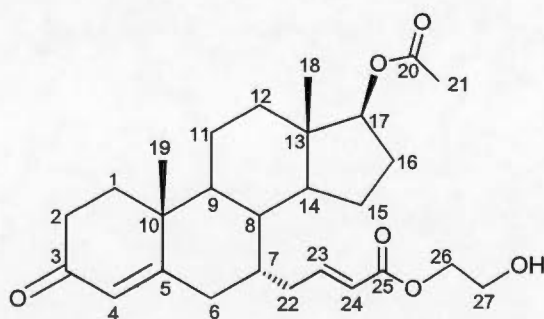
Généralement, la synthèse des dimères s'est faite de manière très semblable. Ainsi, la synthèse est décrite en détail qu'une seule fois. Par la suite, les quantités précises des réactifs utilisées à chaque synthèse sont indiquées dans un tableau.

#### 5.3.1 La synthèse des dimères avec un connecteur aliphatique

Sous un milieu anhydride, le produit de départ, l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**6**), est dissous dans 1 mL du DCM sec. Ensuite, le DCC et le 4-PPy (comme catalyseur) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité à température de la pièce pour 15 minutes avant d'ajouter le diol approprié. La solution est agitée à température de la pièce jusqu'à disparition complète du produit de départ, détecté par CCM. La solution est diluée dans l'éther et elle est extraite deux fois avec l'eau, deux fois avec l'acide acétique 5 % et deux autres fois avec l'eau. La phase organique est séchée avec du  $\text{MgSO}_4$ , filtrée et évaporée. Le produit brut est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 8,5 : 1,5) permettant d'obtenir le monomère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'hydroxy alkyle désiré.

La deuxième étape débute avec la solubilisation du monomère préparé ci-haut dans du DCM sec sous atmosphère d'azote. Ensuite, le DCC et le 4-PPy et l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (**6**) sont ajoutés à la solution. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante jusqu'à disparition complète du produit de départ détecté par CCM. La solution est diluée dans l'éther et elle est extraite deux fois avec l'eau, deux fois avec l'acide acétique 5 % et deux autres fois avec l'eau. La phase organique est séchée avec du MgSO<sub>4</sub>, filtrée et évaporée. Le produit brut est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 8.5 : 1.5) pour donner le dimère correspondant à l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'hydroxyle-alkyl initialement utilisé.

#### 5.3.1.1 Ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de 2-hydroxyéthyle (**7**)



7

	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit <b>6</b>	414,27	0,144	60
DCC	206,33	0,155	32
4-PPy	148,21		2
éthane-1,2-diol	62,07	0,144	8,1 $\mu$ L
		Quantité obtenue	Rendement
Produit <b>7</b>	458,59	22 mg	36 %

Point de fusion : 134,6-137,2 °C.

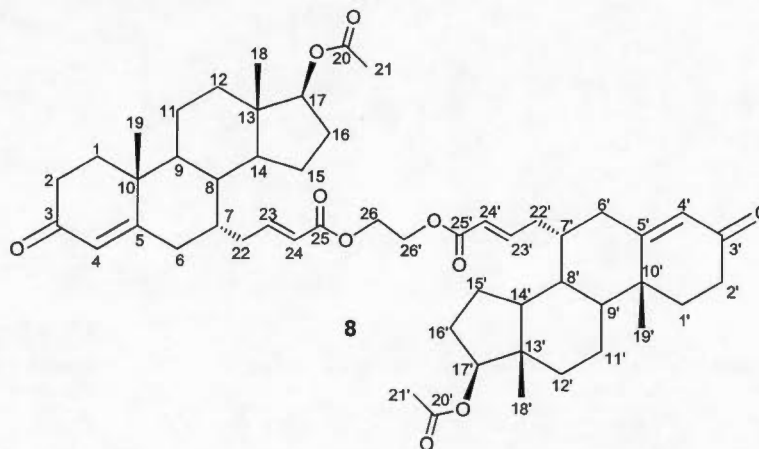
RMN- $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ), J (Hz) : 6,83 (1H, m, 23-CH), 5,88-5,80 (1H, d, J = 15,9 Hz, 24-CH), 5,71 (1H, s, 4-CH), 4,61 (1H, t apparent, J = 8,4 Hz, 17-CH), 4,27 (2H, t, J = 6 Hz, 26-CH $_2$ ), 3,86 (2H, t, J = 6 Hz, 27-CH $_2$ ), 2,04 (3H, s, 21-CH $_3$ ), 1,20 (3H, s, 19-CH $_3$ ), 0,84 (3H, s, 18-CH $_3$ ) et 2,50-0,50 (21H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN- $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ) : 198,98 (C-3), 171,11 (C-20), 168,25 (C-5), 165,59 (C-25), 151,23 (C-23), 126,36 (C-4), 122,75 (C-24), 82,26 (C-17), 66,26 (C-26), 61,22 (C-27), 47,00, 46,06, 42,57, 38,61, 38,20, 36,38, 35,90, 35,51, 33,92, 28,86, 27,27, 24,74, 22,82, 21,12, 20,84, 17,91 et 11,89.

IR (pur),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3315 (m, OH), 2928, 2851 (i, CH aliphatique), 1732 (m, C=O acétate), 1662 (i, C=O énone), 1623 (m, C=C système conjugué), 1242 (i, C-O ester insaturé) et 888 (f, C-H).

SMHR ( $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_6$ ) : masse calculée = 458,2668 et masse trouvée = 458,2662.

#### 5.3.1.2 Dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'éthyle (**8**)



	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit 7	458,59	0,046	22,3
DCC	206,33	0,087	18
4-PPy	148,21		2
Produit 6	414,27	0,048	20
		Quantité obtenue	Rendement
Produit 8	855,11	49,2 mg	30 %

Point de fusion : 125,7-127,9 °C.

RMN-<sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 6,83 (2H, m, 23-CH et 23'-CH), 5,88-5,80 (2H, d, J = 16 Hz, 24-CH et 24'-CH), 5,71 (2H, s, 4-CH et 4'-CH), 4,61 (2H, t apparent, J = 8,4 Hz, 17-CH et 17'-CH), 4,27 (4H, s, 26-CH<sub>2</sub> et 26'-CH<sub>2</sub>), 2,04 (6H, s, 21-CH<sub>3</sub> et 21'-CH<sub>3</sub>), 1,20 (6H, s, 19-CH<sub>3</sub> et 19'-CH<sub>3</sub>), 0,84 (6H, s, 18-CH<sub>3</sub> et 18'-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (40H, # m, protons restants du stéroïde).

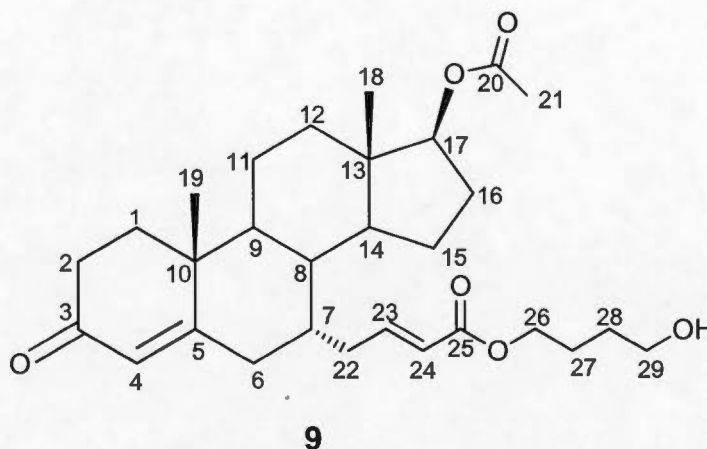
RMN-<sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>) : 198,73 (C-3 et C'-3), 171,04 (C-20 et C'-20), 168,09 (C-5 et C'-5), 165,97 (C-25 et C'-25), 148,24 (C-23 et C'-23), 126,39 (C-4 et C'-4), 122,65 (C-24 et C'-24), 82,26 (C-17 et C'-17), 62,12 (C-26 et C'-26), 2\*(47,00, 46,06, 42,57, 38,61, 38,20, 36,35, 35,75, 33,93, 31,52, 28,74, 27,29, 24,54, 22,83, 21,11, 20,68, 17,91 et 11,89).

IR (pur),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) : 3315 (m, OH), 2928, 2851 (i, CH aliphatique), 1732 (m, C=O acétate), 1662 (i, C=O énone), 1623 (m, C=C système conjugué), 1242 (i, C-O ester insaturé) et 888 (f, C-H).

SMHR (C<sub>52</sub>H<sub>70</sub>O<sub>10</sub>) : masse calculée = 854,4969 et masse trouvée = 854,4992.



5.3.1.3 Ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de 4-hydroxybutyle (**9**)



	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit <b>6</b>	414,27	0,145	60
DCC	206,33	0,217	44,8
4-PPy	148,21		2
butane-1,4-diol	90,17	0,443	40 $\mu$ L
		Quantité obtenue	Rendement
Produit <b>9</b>	486,64	33,2 mg	47,8 %

Point de fusion : 146,3-153,5 °C.

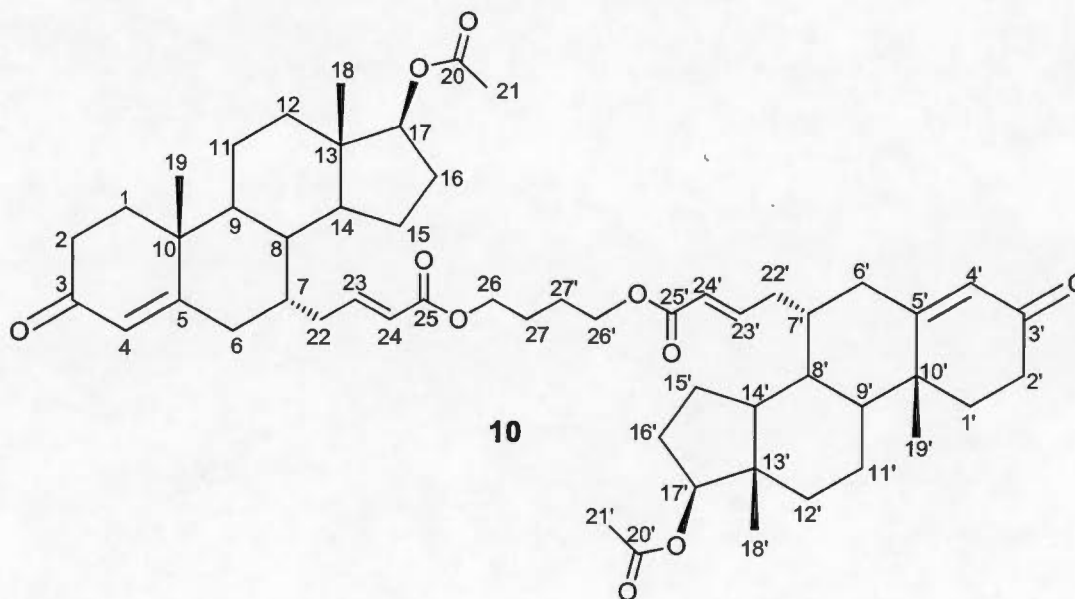
RMN- $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ), J (Hz) : 6,84-6,69 (1H, m, 23-CH), 5,81-5,73 (1H, d, J = 15,4 Hz, 24-CH), 5,68 (1H, s, 4-CH), 4,58 (1H, t apparent, J = 8,2 Hz, 17-CH), 4,14 (2H, t, J = 5,8 Hz, 26-CH $_2$ ), 3,66 (2H, t, J = 6,2 Hz, 29-CH $_2$ ), 2,02 (3H, s, 21-CH $_3$ ), 1,18 (3H, s, 19-CH $_3$ ), 0,82 (3H, s, 18-CH $_3$ ) et 2,50-0,50 (25H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN- $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ) : 198,94 (C-3), 171,08 (C-20), 168,39 (C-5), 166,40 (C-25), 147,36 (C-23), 126,28 (C-4), 123,16 (C-24), 82,25 (C-17), 64,19 (C-26), 62,26 (C-29), 46,96, 46,03, 42,55, 38,59, 36,19, 35,96, 35,51, 33,90, 31,54, 29,22, 28,79, 28,27, 27,26, 25,08, 22,91, 22,81, 21,10, 17,91 et 11,67.

IR (pur),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3334 (m, OH), 2940, 2850 (i, CH aliphatique), 1723 (m, C=O acétate), 1657 (i, C=O énone), 1624 (m, C=C système conjugué), 1243 (i, C-O ester insaturé) et 857 (f, C-H).

SMHR ( $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_6$ ) : masse calculée = 486,2974 et masse trouvée = 486,2981.

#### 5.3.1.4 Dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de butyle (**10**)



	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit 9	486,64	0,046	22,3
DCC	206,33	0,087	18
4-PPy	148,21		2
Produit 6	414,27	0,048	20
		Quantité obtenue	Rendement
Produit 10	883,16	24,5 mg	61 %

Point de fusion : 117,9-124,5 °C

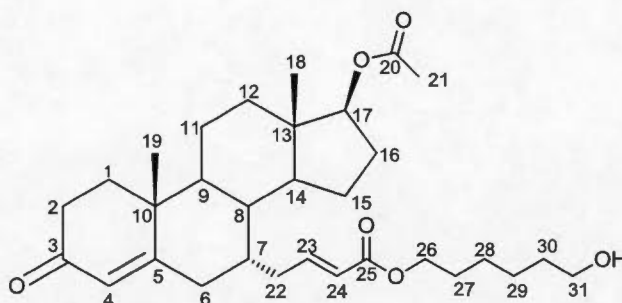
RMN-<sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 6,76 (2H, m, 23-CH et 23'-CH), 5,84-5,76 (2H, d, J = 16 Hz, 24-CH et 24'-CH), 5,71 (2H, s, 4-CH et 4'-CH), 4,61 (2H, t apparent, J = 8,3 Hz, 17-CH et 17'-CH), 4,16 (4H, s, 26-CH<sub>2</sub> et 26'-CH<sub>2</sub>), 2,04 (6H, s, 21-CH<sub>3</sub> et 21'-CH<sub>3</sub>), 1,21 (6H, s, 19-CH<sub>3</sub> et 19'-CH<sub>3</sub>), 0,84 (6H, s, 18-CH<sub>3</sub> et 18'-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (44H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN-<sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>) : 198,80 (C-3 et C'-3), 171,08 (C-20 et C'-20), 168,17 (C-5 et C'-5), 166,32 (C-25 et C'-25), 147,51 (C-23 et C'-23), 126,38 (C-4 et C'-4), 123,16 (C-24 et C'-24), 82,27 (C-17 et C'-17), 63,87 (C-26 et C'-26), 2\*(46,95, 46,07, 42,57, 38,60, 38,19, 37,18, 36,38, 35,89, 35,51, 33,94, 28,86, 27,29, 25,33, 22,83, 21,12, 20,68, 17,91 et 11,88).

IR (pur),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) : 2940, 2850 (i, CH aliphatique), 1723 (m, C=O acétate), 1656 (i, C=O énone), 1615 (m, C=C système conjugué), 1243 (i, C-O ester insaturé) et 857 (f, C-H).

SMHR (C<sub>54</sub>H<sub>74</sub>O<sub>10</sub>) : masse calculée = 882,5282 et masse trouvée = 882,5284.

5.3.1.5 Ester *trans*-4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de 6-hydroxyhexyle (**11**)

**11**

	PM (g/mol)	N3 (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit 6	414,27	0,183	75,7
DCC	206,33	0,218	45
4-PPy	148,21		2
hexane-1,6-diol	118,23	0,2	24
		Quantité obtenue	Rendement
Produit 11	514,69	56,2 mg	60 %

Point de fusion : 169,2-172,0 °C.

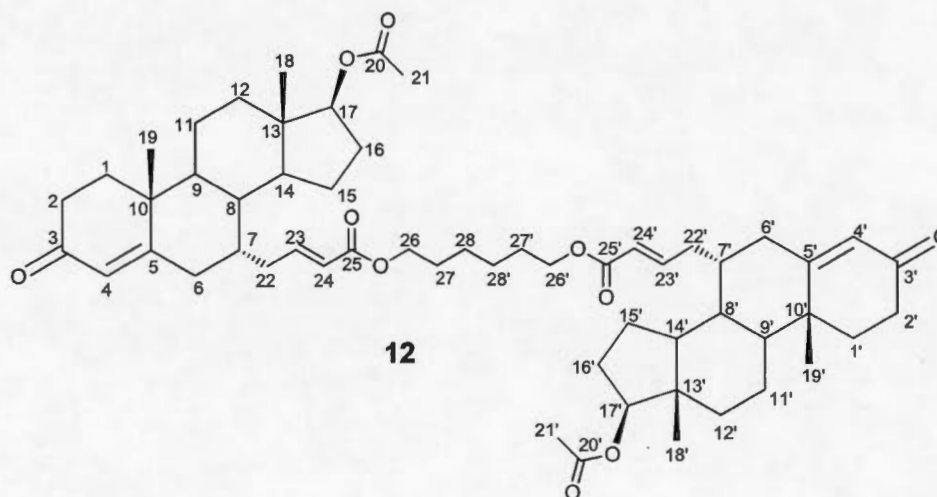
RMN-<sup>1</sup>H, δ (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 6,77 (1H, m, 23-CH), 5,83-5,75 (1H, d, J = 16 Hz, 24-CH), 5,71 (1H, s, 4-CH), 4,61 (1H, t apparent, J = 8,3 Hz, 17-CH), 4,12 (2H, t, J = 5,6 Hz, 26-CH<sub>2</sub>), 3,64 (2H, t, J = 6,1 Hz, 31-CH<sub>2</sub>), 2,03 (3H, s, 21-CH<sub>3</sub>), 1,20 (3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 0,84 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (29H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN- $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ) : 196,41 (C-3), 168,52 (C-20), 165,83 (C-5), 163,85 (C-25), 144,67 (C-23), 123,75 (C-4), 120,69 (C-24), 79,69 (C-17), 61,80 (C-26), 60,13 (C-31), 47,00, 46,06, 44,41, 42,57, 38,61, 38,20, 36,38, 35,90, 35,51, 33,92, 33,78, 33,17, 31,35, 28,86, 27,27, 24,74, 22,82, 21,12, 20,64, 17,91 et 11,31.

IR (pur),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3334 (m, OH), 2940, 2850 (i, CH aliphatique), 1723 (m, C=O acétate), 1657 (i, C=O énone), 1624 (m, C=C système conjugué), 1243 (i, C-O ester insaturé) et 857 (f, C-H).

SMHR ( $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_6$ ) : masse calculée = 514,3294 et masse trouvée = 514,3311.

#### 5.3.1.6 Dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'hexyle (**12**)



	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit <b>11</b>	514,69	0,078	40
DCC	206,33	0,097	20
4-PPy	148,21		2
Produit <b>6</b>	414,27	0,079	33
		Quantité obtenue	Rendement
Produit <b>12</b>	911,21	27 mg	37 %

Point de fusion : 155,2-163,9 °C.

RMN-<sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 6,77 (2H, m, 23-CH et 23'-CH), 5,83-5,75 (2H, d, J = 16 Hz, 24-CH et 24'-CH), 5,70 (2H, s, 4-CH et 4'-CH), 4.60 (2H, t apparent, J = 8,3 Hz, 17-CH et 17'-CH), 4,11 (4H, m, 26-CH<sub>2</sub> et 26'-CH<sub>2</sub>), 2,03 (6H, s, 21-CH<sub>3</sub> et 21'-CH<sub>3</sub>), 1,20 (6H, s, 19-CH<sub>3</sub> et 19'-CH<sub>3</sub>), 0,84 (6H, s, 18-CH<sub>3</sub> et 18'-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (48H, # m, protons restants du stéroïde).

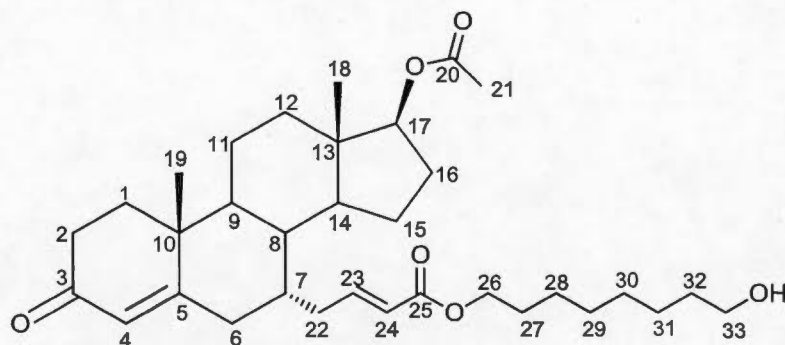
RMN-<sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>) : 198,82 (C-3 et C'-3), 171,06 (C-20 et C'-20), 168,20 (C-5 et C'-5), 166,40 (C-25 et C'-25), 147,27 (C-23 et C'-23), 126,38 (C-4 et C'-4), 123,20 (C-24 et C'-24), 82,26 (C-17 et C'-17), 64,33 (C-26 et C'-26), 2\*(46,97, 46,07, 42,56, 38,61, 38,20, 36,38, 35,90, 35,51, 33,78, 29,36, 28.86, 28,69, 27,27, 25,64, 24,74, 22,82, 21,12, 20,68, 17,91 et 11,89).

IR (pur),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) : 2936, 2856 (i, CH aliphatique), 1716 (m, C=O acétate), 1670 (i, C=O énone), 1615 (m, C=C système conjugué), 1242 (i, C-O ester insaturé) et 857 (f, C-H).

SMHR (C<sub>56</sub>H<sub>78</sub>O<sub>10</sub>) : masse calculée = 910,5637 et masse trouvée = 910,5595.



5.3.1.7 Ester *trans*-4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de 8-hydroxyoctyle (**13**)

**13**

	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit 6	414,27	0,362	150
DCC	206,33	0,375	97,5
4-PPy	148,21		2
octane-1,8-diol	146,23	0,362	53
		Quantité obtenue	Rendement
Produit 13	542,76	89,3 mg	45,5 %

Point de fusion : 159,0-163,2 °C.

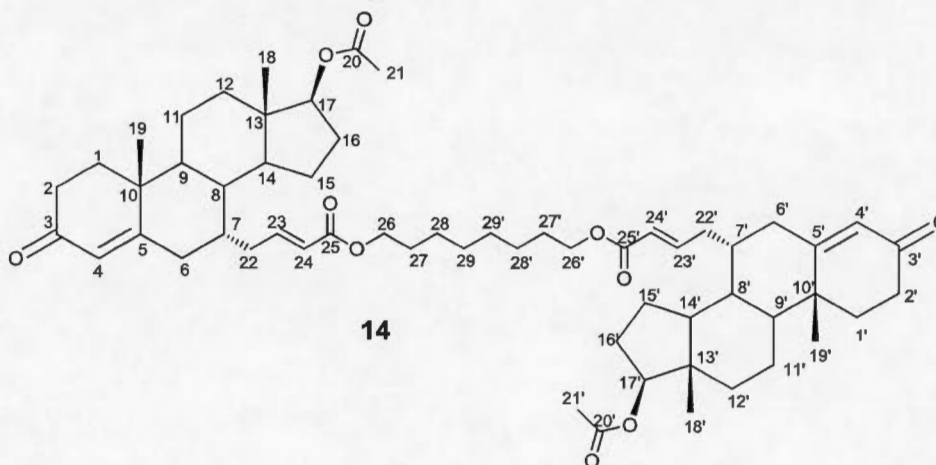
RMN-<sup>1</sup>H, δ (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 6,76 (1H, m, 23-CH), 5,83-5,75 (1H, d, J = 16 Hz, 24-CH), 5,70 (1H, s, 4-CH), 4,60 (1H, t apparent, J = 8,3 Hz, 17-CH), 4,10 (2H, t, J = 5,6 Hz, 26-CH<sub>2</sub>), 3,62 (2H, t, J = 6,1 Hz, 33-CH<sub>2</sub>), 2,03 (3H, s, 21-CH<sub>3</sub>), 1,20 (3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 0,84 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (33H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN- $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ) : 198,85 (C-3), 171,09 (C-20), 168,36 (C-5), 166,45 (C-25), 147,21 (C-23), 126,35 (C-4), 123,25 (C-24), 82,77 (C-17), 64,51 (C-26), 62,91 (C-33), 47,00, 46,57, 42,57, 39,21, 38,90, 36,34, 35,87, 35,51, 33,93, 32,71, 29,66, 29,22, 29,14, 28,86, 27,27, 25,85, 25,41, 24,74, 22,82, 21,12, 20,66, 17,91 et 11,88.

IR (pur),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3308 (m, OH), 2927, 2854 (i, CH aliphatique), 17313 (m, C=O acétate), 1698 (i, C=O énone), 1661 (m, C=C système conjugué), 1241 (i, C-O ester insaturé), 1065 (m, C-O alcool primaire) et 890 (f, C-H).

SMHR ( $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{O}_6$ ) : masse calculée = 542,7465 et masse trouvée = 542,7459.

#### 5.3.1.8 Dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'octyle (**14**)



	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit <b>13</b>	542,76	0,120	65
DCC	206,33	0,218	45
4-PPy	148,21		2
Produit <b>6</b>	414,27	0,120	50
		Quantité obtenue	Rendement
Produit <b>14</b>	938,59	57,3 mg	51 %

Point de fusion : 127,3-129,8 °C.

RMN-<sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 6,75 (2H, m, 23-CH et 23'-CH), 5,81-5,73 (2H, d, J = 16 Hz, 24-CH et 24'-CH), 5,69 (2H, s, 4-CH et 4'-CH), 4,59 (2H, t apparent, J = 8,3 Hz, 17-CH et 17'-CH), 4,08 (4H, t, J = 5.6 Hz, 26-CH<sub>2</sub> et 26'-CH<sub>2</sub>), 2,02 (6H, s, 21-CH<sub>3</sub> et 21'-CH<sub>3</sub>), 1,18 (6H, s, 19-CH<sub>3</sub> et 19'-CH<sub>3</sub>), 0,82 (6H, s, 18-CH<sub>3</sub> et 18'-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (52H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN-<sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>) : 198,91 (C-3 et C'-3), 171,03 (C-20 et C'-20), 168,20 (C-5 et C'-5), 166,41 (C-25 et C'-25), 148,24 (C-23 et C'-23), 123,23 (C-4 et C'-4), 122,63 (C-24 et C'-24), 82,25 (C-17 et C'-17), 62,11 (C-26 et C'-26), 2\*(46,97, 46,05, 42,56, 38,59, 38,18, 37,35, 36,34, 35,74, 33,92, 29,65, 29,11, 28,56, 27,27, 25,84, 25,59, 22,81, 21,10, 20,67, 17,90 et 11,87).

IR (pur),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) : 2940, 2850 (i, CH aliphatique), 1723 (m, C=O acétate), 1657 (i, C=O énone), 1624 (m, C=C système conjugué), 1243 (i, C-O ester insaturé) et 857 (f, =C-H déformation).

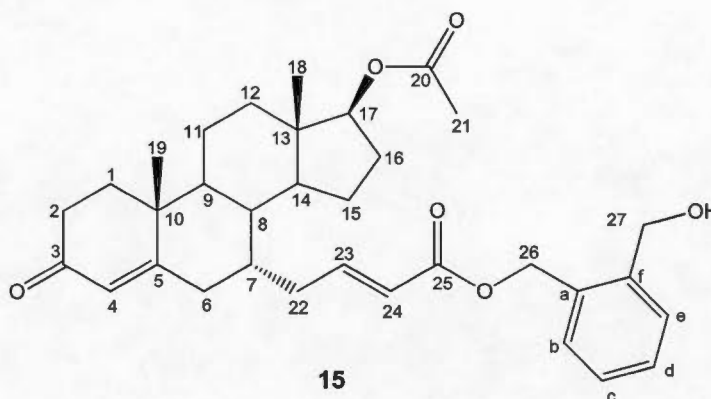
SMHR (C<sub>58</sub>H<sub>82</sub>O<sub>10</sub>) : masse calculée = 938,5908 et masse trouvée = 938,5894.

### 5.3.2 Synthèse des dimères avec une connexion à base d'*ortho*-, *méta*- et *para*-dihydroxyméthyl benzènes

Sous atmosphère d'azote, le produit de départ, l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6), est dissous dans 1 mL du DCM sec. Ensuite, le DCC et le 4-PPy sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité à température ambiante pour 15 minutes avant d'ajouter le dihydroxyméthyl benzène approprié. La solution est agitée à température ambiante jusqu'à disparition complète du produit de départ, détecté par CCM. La solution est diluée dans l'éther et elle est extraite deux fois avec l'eau, deux fois avec l'acide acétique 5 % et deux autres fois avec l'eau. La phase organique est séchée avec du MgSO<sub>4</sub>, filtrée et évaporée. Le produit brut est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 8.5 : 1.5) permettant d'obtenir le monomère d'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'hydroxyméthyl benzène visé.

La deuxième étape de la synthèse du dimère débute avec la solubilisation du monomère approprié dans du DCM sec sous l'atmosphère d'azote. Ensuite, le DCC et le 4-PPy et l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6) sont ajoutés à la solution. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante jusqu'à disparition complète du produit de départ tel que détecté par CCM. La solution est diluée dans l'éther et elle est extraite deux fois avec l'eau, deux fois avec l'acide acétique 5 % et deux autres fois avec l'eau. La phase organique est séchée avec du MgSO<sub>4</sub>, filtrée et évaporée. Le produit brut est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 8.5 : 1.5) pour donner le dimère correspondant à l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'hydroxyl-méthyl benzène.

5.3.2.1 Ester *trans*-4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate d'*ortho*-hydroxyméthyl benzène (**15**)



	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit <b>6</b>	414,27	0,124	51,4
DCC	206,33	0,207	42,9
4-PPy	148,21		2
1,2-dihydroxyméthyl benzène	138,14	0,198	27,4
		Quantité obtenue	Rendement
Produit <b>15</b>	534,68	29 mg	44,5 %

Point de fusion : 190,2-195,5 °C.

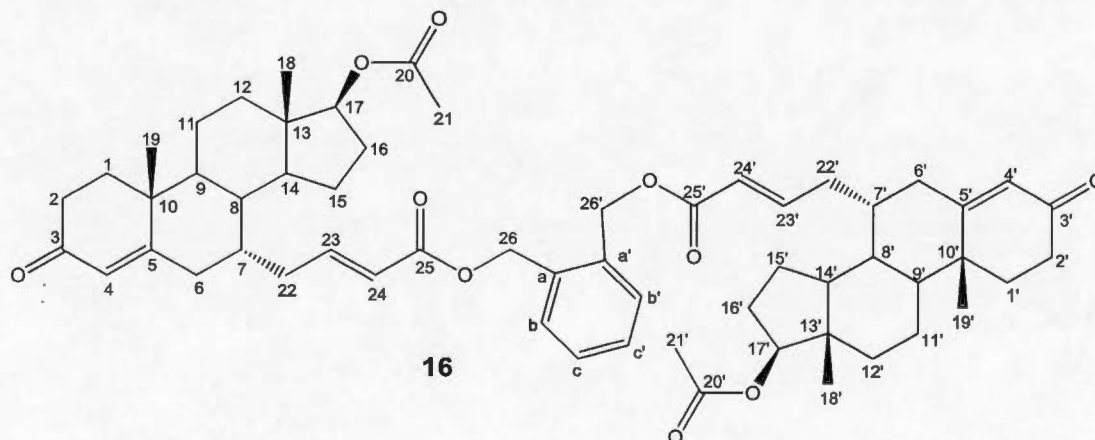
RMN-<sup>1</sup>H, δ (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 7,42-7,31 (4H, m, CH<sub>b</sub>, CH<sub>c</sub>, CH<sub>d</sub>, CH<sub>e</sub>), 6,78 (1H, m, 23-CH), 5,84-5,76 (1H, d, J = 16 Hz, 24-CH), 5,71 (1H, s, 4-CH), 5,29 (2H, s, 26-CH<sub>2</sub>), 4,61 (2H, d, J = 6,1 Hz, 27-CH<sub>2</sub>), 4,52 (2H, t apparent, J = 5,6 Hz, 17-CH), 2,04 (3H, s, 21-CH<sub>3</sub>), 1,21 (3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 0,84 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (21H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN- $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ) : 199,0 (C-3), 171,12 (C-20), 168,39 (C-5), 166,0 (C-25), 148,23 (C-23), 139,52 (C-a), 133,51 (C-f), 129,83, 128,85, 128,45 et 127,92 (C-b, C-c, C-d et C-e), 126,76 (C-4), 122,75 (C-24), 82,26 (C-17), 64,21 (C-26), 63,98 (C-27), 46,97, 46,03, 42,57, 38,59, 38,20, 36,34, 35,61, 37,18, 33,92, 28,94, 27,26, 24,91, 22,84, 21,12, 20,64, 17,92 et 11,89.

IR (pur),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3424 (m, OH), 2936, 2853 (i, CH aliphatique), 1723 (m, C=O acétate), 1658 (i, C=O énone), 1615 (m, C=C système conjugué), 1445, 1435 (m, Ar-H squelette) 1242 (i, C-O ester insaturé), 1041 (m, C-O alcool primaire) 860 (f, =CH déformation) et 809 (f, Ar-H déformation).

SMHR ( $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_6$ ) : masse calculée = 534,2981 et masse trouvée = 534,2979.

### 5.3.2.2 Dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'*ortho*-méthyl benzène (**16**)





	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit 15	534,68	0,036	19
DCC	206,33	0,083	17
4-PPy	148,21		2
Produit 6	414,27	0,043	18
		Quantité obtenue	Rendement
Produit 16	930,58	6,4 mg	19 %

Point de fusion : 169,6-178,5 °C.

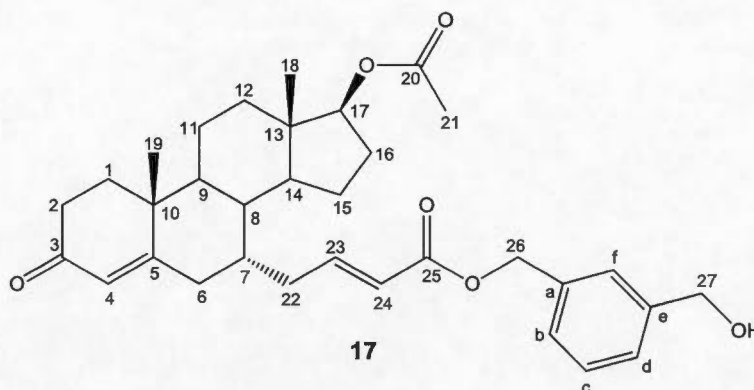
RMN-<sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 7,42-7,31 (4H, m, CH<sub>b</sub>, CH<sub>b'</sub>, CH<sub>c</sub>, CH<sub>c'</sub>), 6,78 (2H, m, 23-CH et 23'-CH), 5,84-5,76 (2H, d, J = 16 Hz, 24-CH et 24'-CH), 5,71 (2H, s, 4-CH et 4'-CH), 5,29 (4H, s, 26-CH<sub>2</sub> et 26'-CH<sub>2</sub>), 4,52 (2H, t apparent, J = 8,3 Hz, 17-CH et 17'-CH), 2,04 (6H, s, 21-CH<sub>3</sub> et 21'-CH<sub>3</sub>), 1,21 (6H, s, 19-CH<sub>3</sub> et 19'-CH<sub>3</sub>), 0,84 (6H, s, 18-CH<sub>3</sub> et 18'-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (40H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN-<sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>) : Non caractérisé, quantité insuffisante pour le RMN-<sup>13</sup>C.

IR (pur),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) : 2935, 2850 (i, CH aliphatique), 1723 (m, C=O acétate), 1657 (i, C=O énone), 1623 (m, C=C système conjugué), 1445,1435 (m, Ar-H squelette) 1243 (i, C-O ester insaturé), 857 (f, =CH déformation) et 752 (f, Ar-H déformation).

SMHR (C<sub>58</sub>H<sub>74</sub>O<sub>10</sub>) : masse calculée = 938,5908 et masse trouvée = 938,5894.

5.3.2.3 Ester *trans*-4-(androst-4-ène-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoate de *mé*ta-hydroxyméthyl benzène (**17**)



	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit <b>6</b>	414,27	0,193	80
DCC	206,33	0,298	61,5
4-PPy	148,21		2
1,3-dihydroxyméthyl benzène	138,14	0,325	45
		Quantité obtenue	Rendement
Produit <b>17</b>	534,68	35 mg	34 %

Point de fusion : 169,3-172,9 °C.

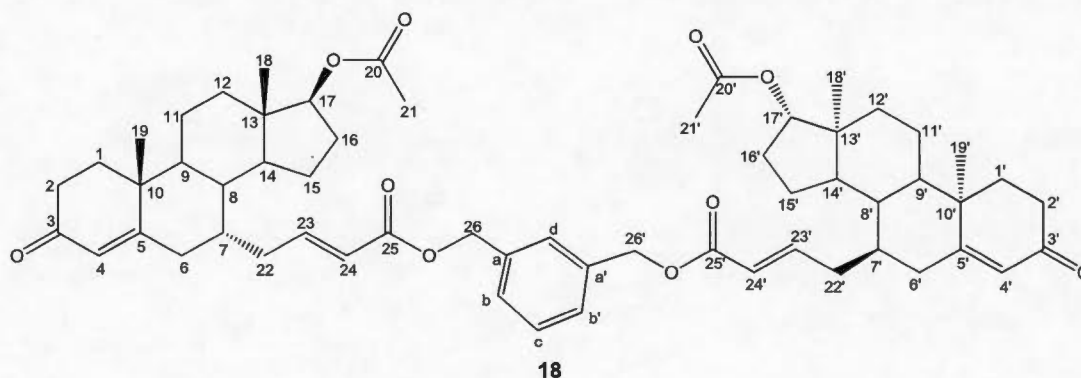
RMN-<sup>1</sup>H, δ (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 7,46-7,33 (4H, m, CH<sub>b</sub>, CH<sub>c</sub>, CH<sub>d</sub>, CH<sub>f</sub>), 6,81 (1H, m, 23-CH), 5,88-5,80 (1H, d, J = 16 Hz, 24-CH), 5,71 (1H, s, 4-CH), 5,29 (2H, s, 26-CH<sub>2</sub>), 4,61 (2H, t apparent, J = 6,1 Hz, 27-CH<sub>2</sub>), 4,56 (1H, t apparent, J = 8,3Hz, 17-CH), 2,04 (3H, s, 21-CH<sub>3</sub>), 1,20 (3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 0,85 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (21H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN- $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ) : 198,98 (C-3), 171,09 (C-20), 168,42 (C-5), 166,02 (C-25), 148,10 (C-23), 141,54 (C-a), 136,22 (C-f), 128,83 (C-b), 128,17 (C-e), 127,27 (C-c), 126,70 (C-d), 126,55 (C-4), 122,93 (C-24), 82,07 (C-17), 66,00 (C-26), 64,88 (C-27), 47,02, 46,05, 42,57, 38,66, 38,21, 36,34, 35,85, 33,90, 31,29, 28,86, 27,10, 25,49, 22,83, 21,11, 20,18, 17,78 et 11,71.

IR (pur),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3424 (m, OH), 2936, 2853 (i, CH aliphatique), 1723 (m, C=O acétate), 1658 (i, C=O énone), 1615 (m, C=C système conjugué), 1445, 1435 (m, Ar-H squelette) 1242 (i, C-O ester insaturé), 1041 (m, C-O alcool primaire) 860 (f, =CH déformation) et 809 (f, Ar-H déformation).

SMHR ( $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_6$ ) : masse calculée = 534,2981 et masse trouvée = 534,2960.

#### 5.3.2.4 Dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de *mé*ta-méthyl benzène (**18**)



	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit <b>17</b>	534,68	0,037	20
DCC	206,33	0,048	10
4-PPy	148,21		2
Produit <b>6</b>	414,27	0,038	16
		Quantité obtenue	Rendement
Produit <b>18</b>	930,58	10,3 mg	32 %

Point de fusion : 187,0-192,5 °C.

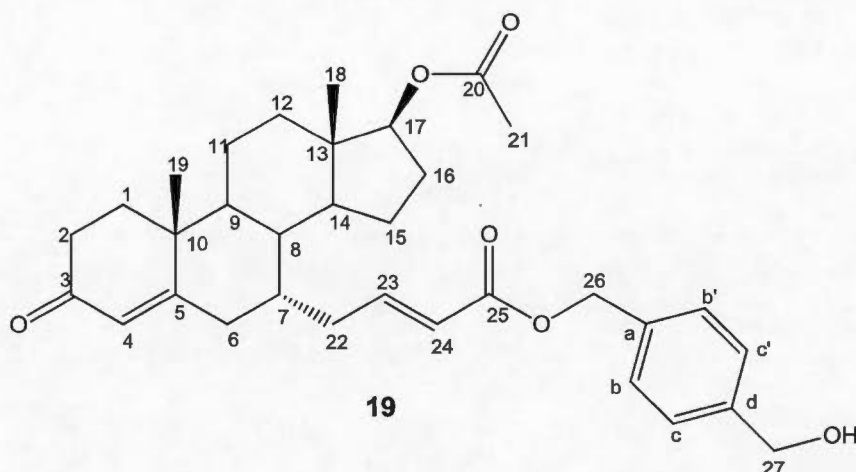
RMN-<sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 7,46-7,33 (4H, m, CH<sub>b</sub>, CH<sub>b'</sub>, CH<sub>c</sub>, CH<sub>d</sub>), 6,81 (2H, m, 23-CH et 23'-CH), 5,84-5,76 (2H, d, J= 16 Hz, 24-CH et 24'-CH), 5,71 (2H, s, 4-CH et 4'-CH), 5,29 (4H, s, 26-CH<sub>2</sub> et 26'-CH<sub>2</sub>), 4,54 (2H, t apparent, J= 8,3 Hz, 17-CH et 17'-CH), 2,04 (6H, s, 21-CH<sub>3</sub> et 21'-CH<sub>3</sub>), 1,21 (6H, s, 19-CH<sub>3</sub> et 19'-CH<sub>3</sub>), 0,84 (6H, s, 18-CH<sub>3</sub> et 18'-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (40H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN-<sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>) : Non caractérisé, quantité insuffisante pour le RMN-<sup>13</sup>C.

IR (pur),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) : 2935, 2850 (i, CH aliphatique), 1723 (m, C=O acétate), 1657 (i, C=O énone), 1623 (m, C=C système conjugué), 1445,1435 (m, Ar-H squelette) 1243 (i, C-O ester insaturé), 857 (f, =CH déformation) et 752 (f, Ar-H déformation).

SMHR (C<sub>58</sub>H<sub>74</sub>O<sub>10</sub>) : masse calculée = 930,5282 et masse trouvée = 930,5312.

5.3.2.5 Ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de *para*-hydroxyméthyl benzène (**19**)



	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit <b>6</b>	414,27	0,242	100
DCC	206,33	0,306	63,3
4-PPy	148,21		2
1,4-dihydroxyméthyl benzène	138,14	0,253	35
		Quantité obtenue	Rendement
Produit <b>19</b>	534,68	47,3 mg	44 %

Point de fusion : 173,9-176,4 °C.

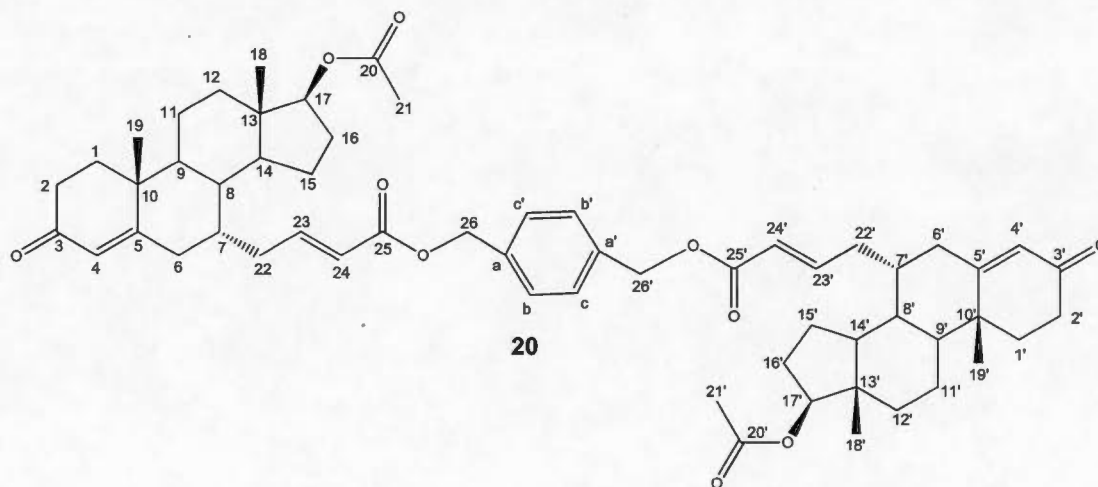
RMN- $^1\text{H}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ), J (Hz) : 7,38-7,37 (4H, d, J= 2Hz,  $\text{CH}_b$ ,  $\text{CH}_{b'}$ ,  $\text{CH}_c$ ,  $\text{CH}_{c'}$ ), 6,78 (1H, m, 23- $\text{CH}$ ), 5,88-5.80 (1H, d, J= 16 Hz, 24- $\text{CH}$ ), 5,69 (1H, s, 4- $\text{CH}$ ), 5,29 (2H, s, 26- $\text{CH}_2$ ), 4,61 (2H, s, 27- $\text{CH}_2$ ), 4,56 (1H, t apparent, J= 8,3 Hz, 17- $\text{CH}$ ), 2,03 (3H, s, 21- $\text{CH}_3$ ), 1,20 (3H, s, 19- $\text{CH}_3$ ), 0,84 (3H, s, 18- $\text{CH}_3$ ) et 2,50-0,50 (21H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN- $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$  (ppm,  $\text{CDCl}_3$ ) : 198,57 (C-3), 171,15 (C-20), 168,05 (C-5), 166,01 (C-25), 148,03 (C-23), 140,08 (C-a), 135,50 (C-d), 128,92 (C-b, C-b'), 127,76 (C-c, C-c'), 126,76 (C-4), 122,75 (C-24), 82,26 (C-17), 65,64 (C-26), 63,98 (C-27), 46,96, 46,08, 42,87, 38,45, 38,20, 36,75, 36,34, 35,61, 33,94, 28,94, 27,26, 24,91, 22,84, 21,12, 20,84, 17,92 et 11,89.

IR (pur),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3424 (m, OH), 2936, 2853 (i, CH aliphatique), 1723 (m, C=O acétate), 1658 (i, C=O énone), 1615 (m, C=C système conjugué), 1445, 1435 (m, Ar-H squelette) 1242 (i, C-O ester insaturé), 1041 (m, C-O alcool primaire) 860 (f, =CH déformation) et 809 (f, Ar-H déformation).

SMHR ( $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_6$ ) : masse calculée = 534,2981 et masse trouvée = 534,2986.

### 5.3.2.6 Dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de *para*-méthyl benzène (**20**)





	PM (g/mol)	n (mmol)	Quantité prise (mg)
Produit <b>19</b>	534,68	0,052	28
DCC	206,33	0,110	23.5
4-PPy	148,21		2
Produit <b>6</b>	414,27	0,053	22
		Quantité obtenue	Rendement
Produit <b>20</b>	930,58	45,8 mg	41 %

Point de fusion : 183,9-196,8 °C.

RMN-<sup>1</sup>H,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>), J (Hz) : 7,39 (4H, s, CH<sub>b</sub>, CH<sub>b'</sub>, CH<sub>c</sub>, CH<sub>c'</sub>), 6,83 (2H, m, 23-CH et 23'-CH), 5,88-5,81 (2H, d, J= 16 Hz, 24-CH et 24'-CH), 5,70 (2H, s, 4-CH et 4'-CH), 5,22 (4H, s, 26-CH<sub>2</sub> et 26'-CH<sub>2</sub>), 4,61 (2H, t apparent, J= 8,3 Hz, 17-CH et 17'-CH), 2,04 (6H, s, 21-CH<sub>3</sub> et 21'-CH<sub>3</sub>), 1,20 (6H, s, 19-CH<sub>3</sub> et 19'-CH<sub>3</sub>), 0,85 (6H, s, 18-CH<sub>3</sub> et 18'-CH<sub>3</sub>) et 2,50-0,50 (40H, # m, protons restants du stéroïde).

RMN-<sup>13</sup>C,  $\delta$  (ppm, CDCl<sub>3</sub>) : 198,88 (C-3 et C'-3), 171,15 (C-20 et C'-20), 168,05 (C-5 et C'-5), 166,01 (C-25 et C'-25), 148,03 (C-23 et C'-23), 135,98 (C-a et C-a'), 128,50 (C-b et C-b', C-c et C-c'), 125,76 (C-4 et C'-4), 122,75 (C-24 et C'-24), 82,26 (C-17 et C'-17), 63,98 (C-26 et C'-26), 2\* (46,97, 46,03, 42,57, 38,59, 38,20, 36,34, 35,89, 35,61, 33,92, 28,94, 27,26, 24,91, 22,84, 21,12, 20,64, 17,92 et 11,89).

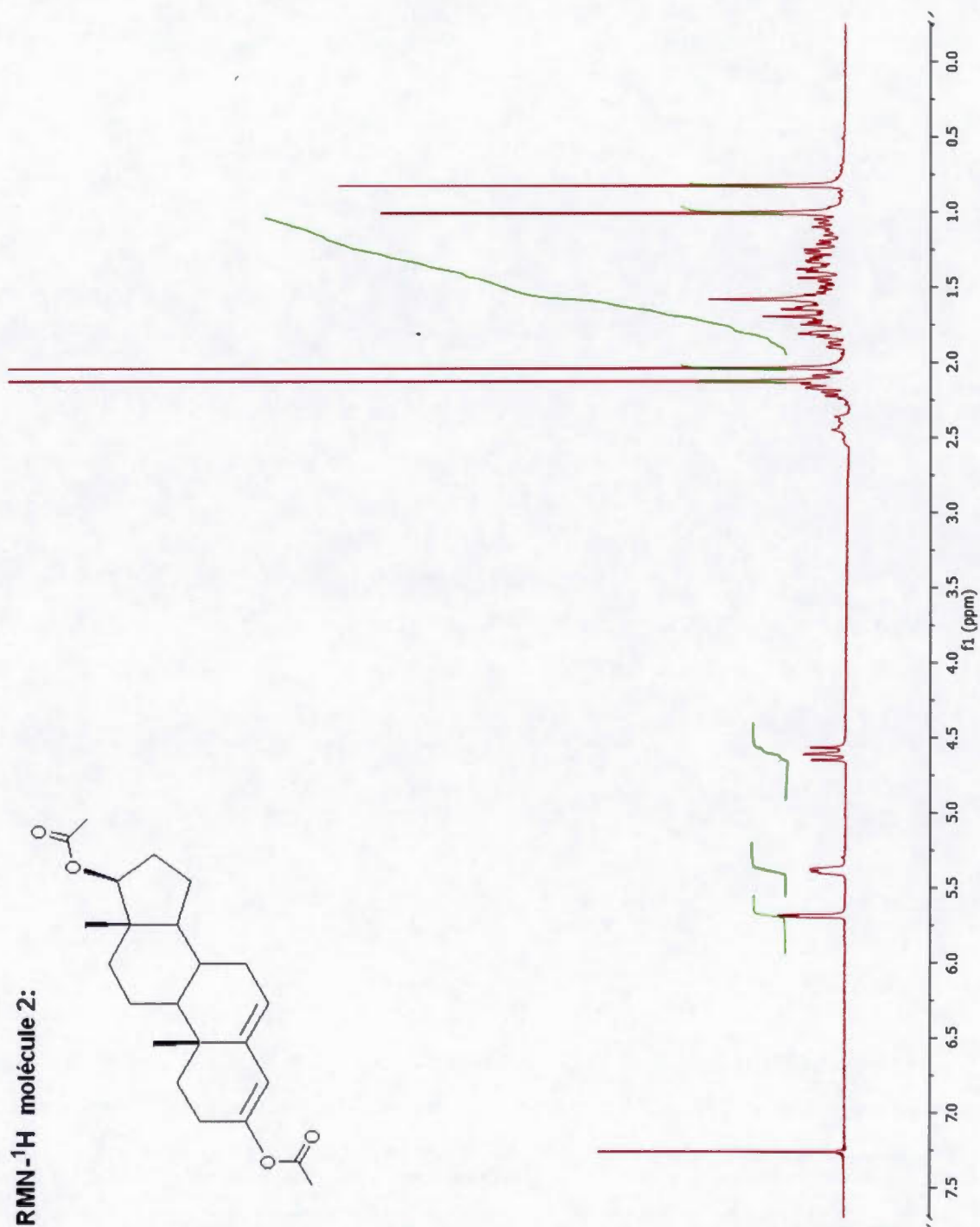
IR (pur),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) : 2935, 2850 (i, CH aliphatique), 1723 (m, C=O acétate), 1657 (i, C=O énone), 1623 (m, C=C système conjugué), 1445,1435 (m, Ar-H squelette) 1243 (i, C-O ester insaturé), 857 (f, =CH déformation) et 752 (f, Ar-H déformation).

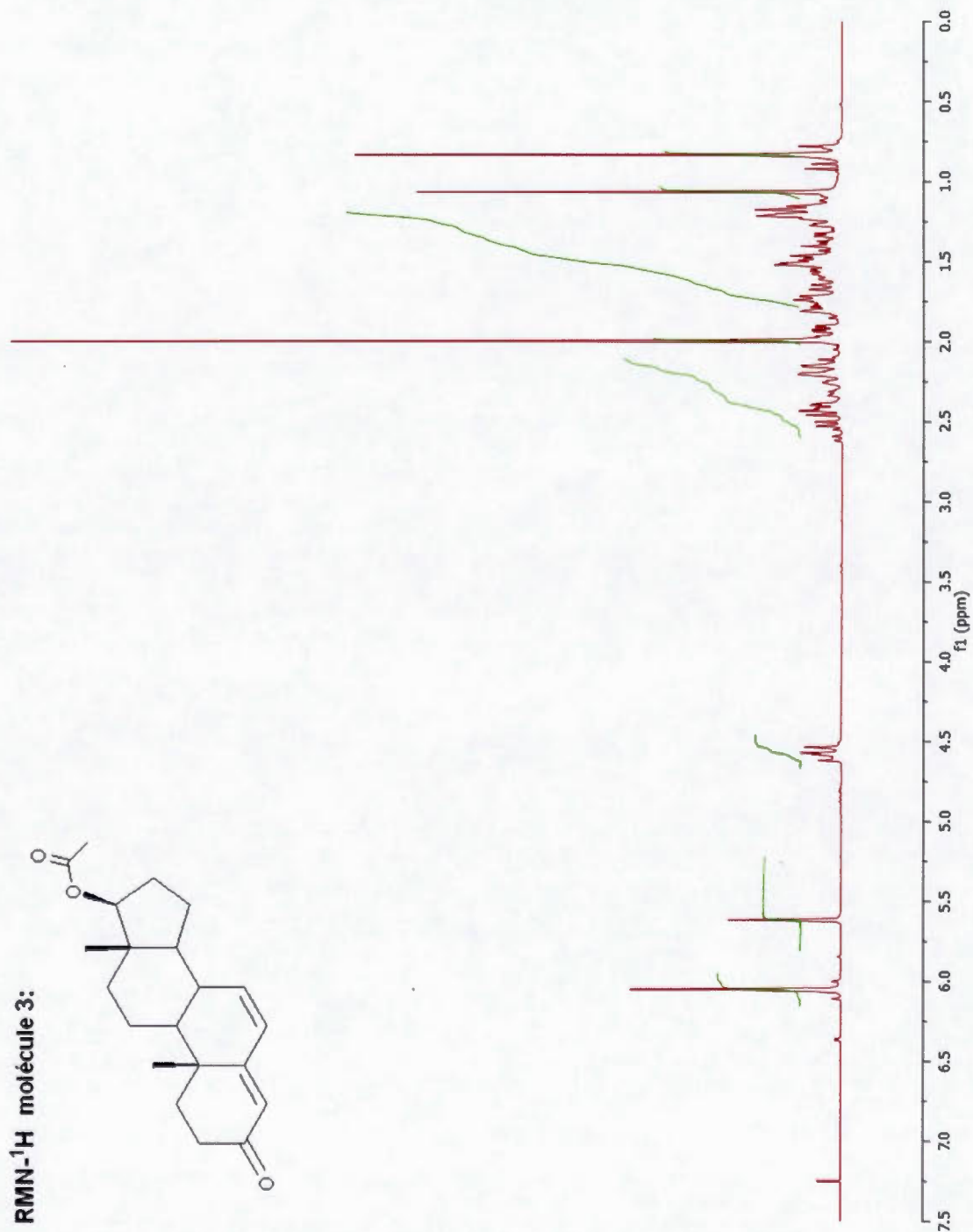
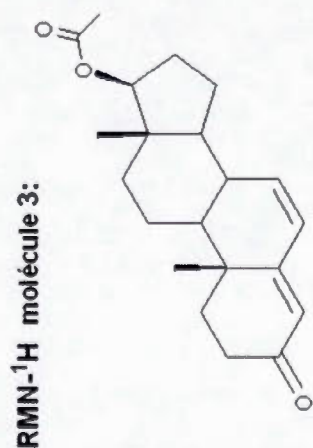
SMHR (C<sub>58</sub>H<sub>74</sub>O<sub>10</sub>) : masse calculée = 930,5282 et masse trouvée = 930,5312.

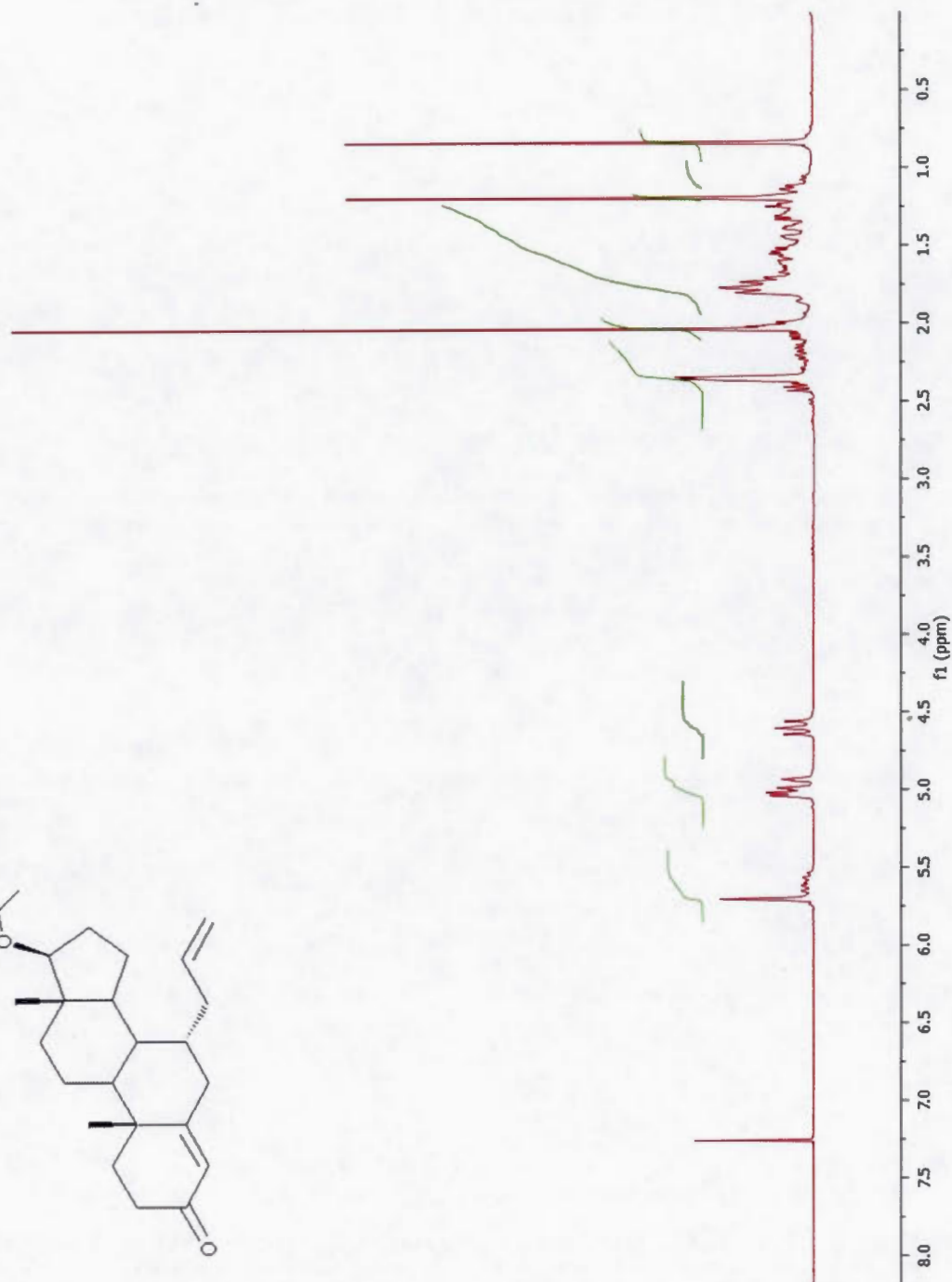
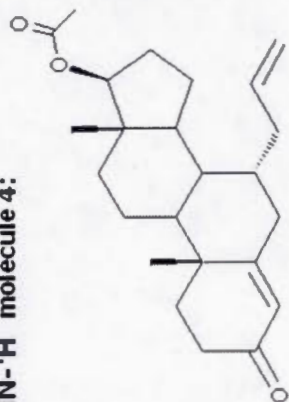
## APPENDICE A

### SPECTRES RMN-<sup>1</sup>H ET RMN-<sup>13</sup>C

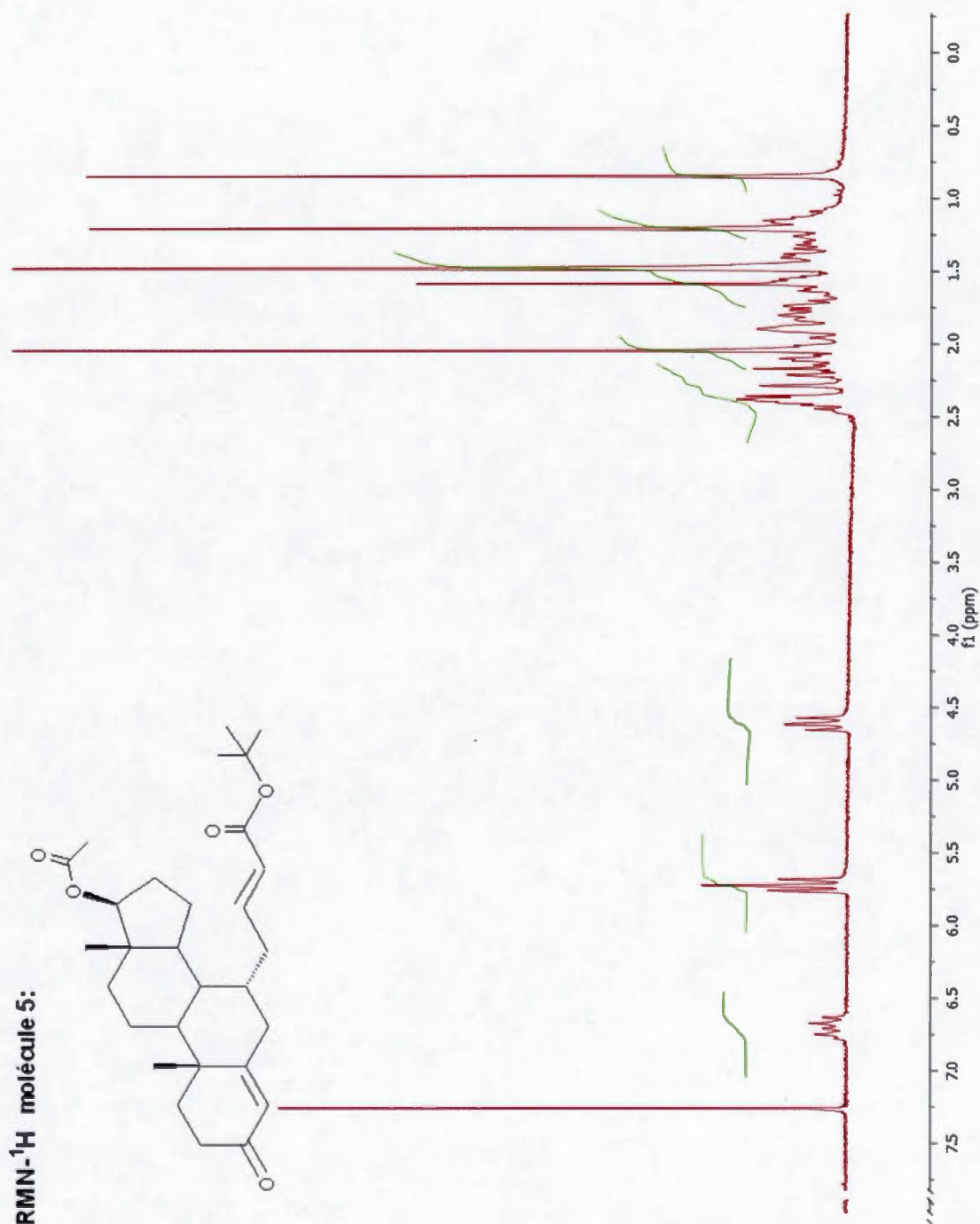
Les spectres RMN-<sup>1</sup>H sont tous présentés selon l'ordre de leur numérotation suivie des spectres RMN-<sup>13</sup>C. Le solvant utilisé pour la solubilisation de tous les produits est le CDCl<sub>3</sub> permettant d'expliquer le pic à 7,26 ppm dans des spectres du proton et les trois pics situés entre 77 et 80 ppm dans des spectres du carbone.

Spectre A.1 RMN- $^1\text{H}$  du diacétate d'androsta-3,5-diène-3,17 $\beta$ -diol (2)



Spectre A.3 RMN-<sup>1</sup>H de l'acétate de 7α-allyl-androst-4-ène-17β-ol-3-one (4)RMN-<sup>1</sup>H molécule 4:

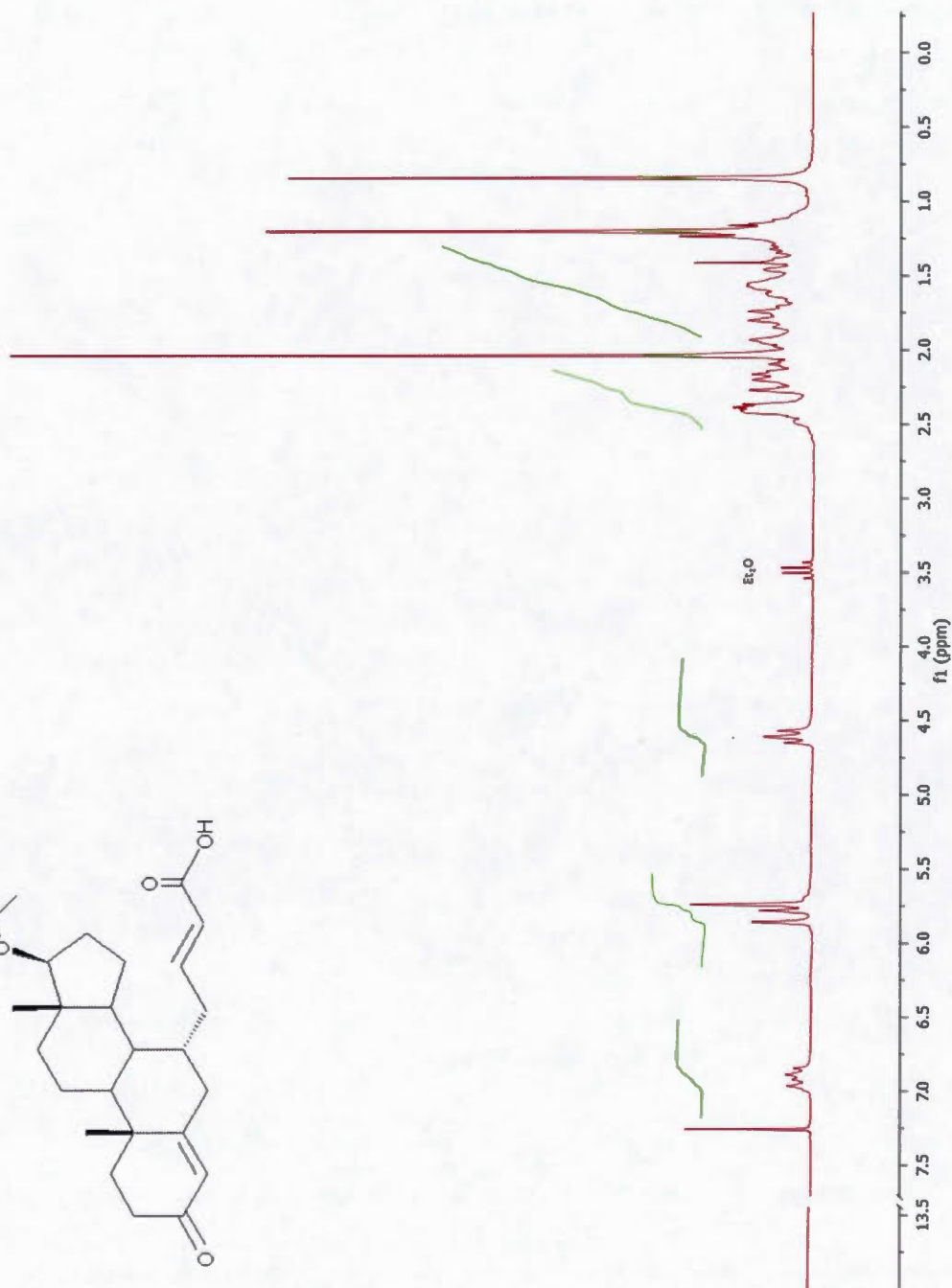
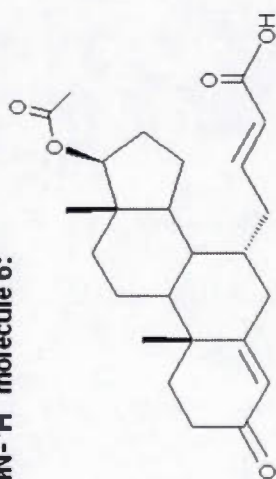
Spectre A.4 RMN- $^1\text{H}$  de l'ester *tert*-butylique de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (5)



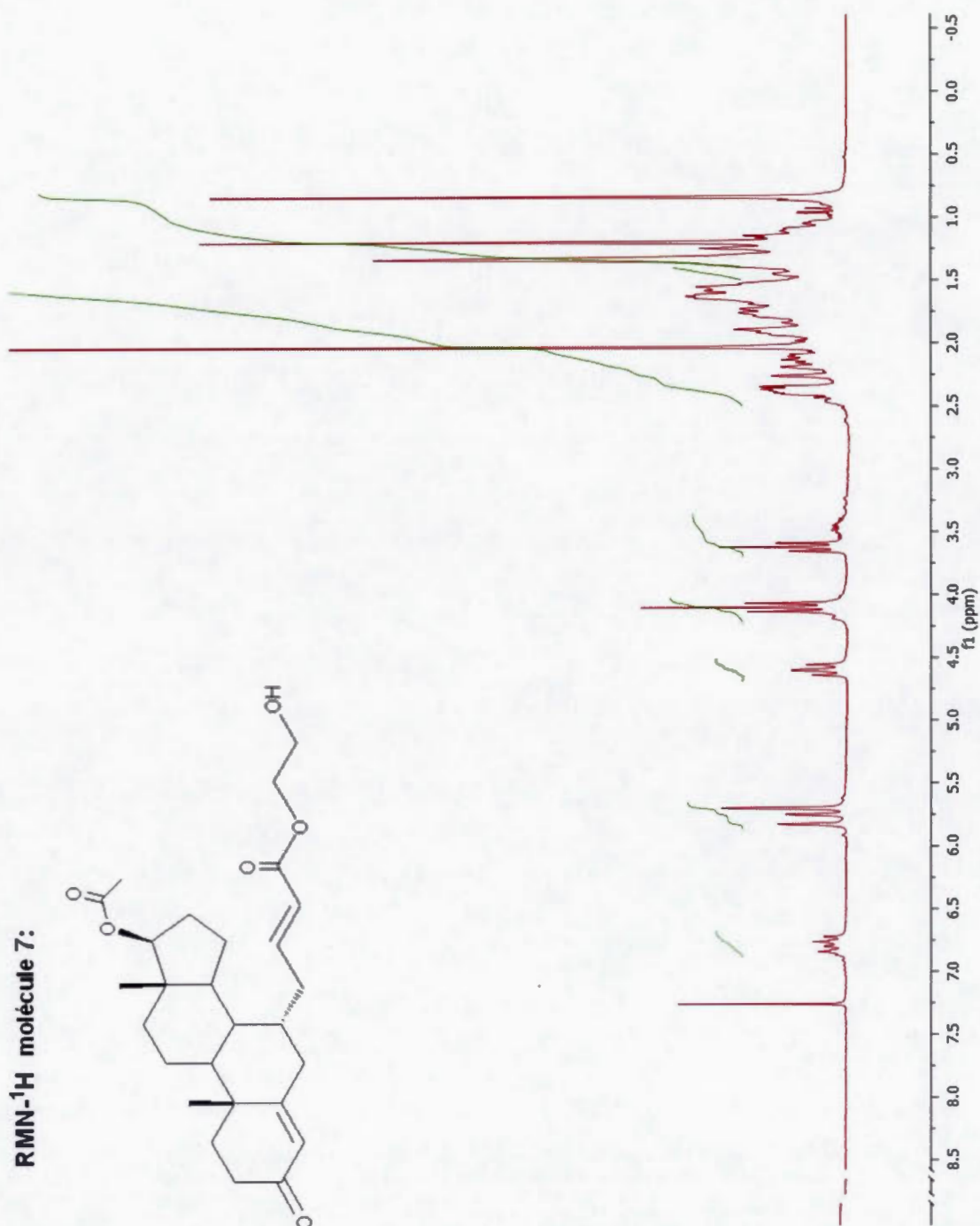


Spectre A.5 RMN- $^1\text{H}$  de l'acide *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoïque (6)

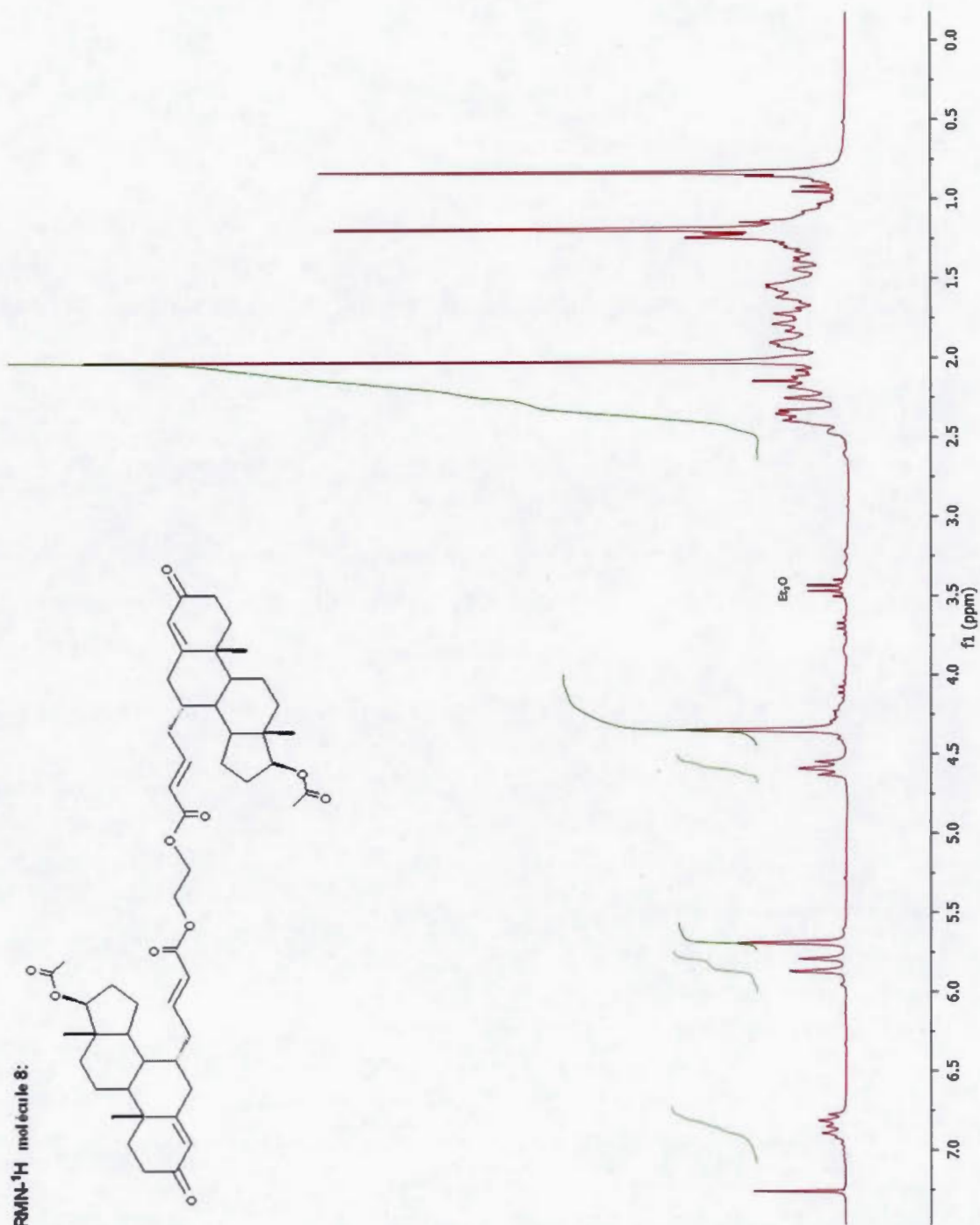
RMN- $^1\text{H}$  molécule 6:



Spectre A.6 RMN- $^1\text{H}$  de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de 2-hydroxyéthyle (7)

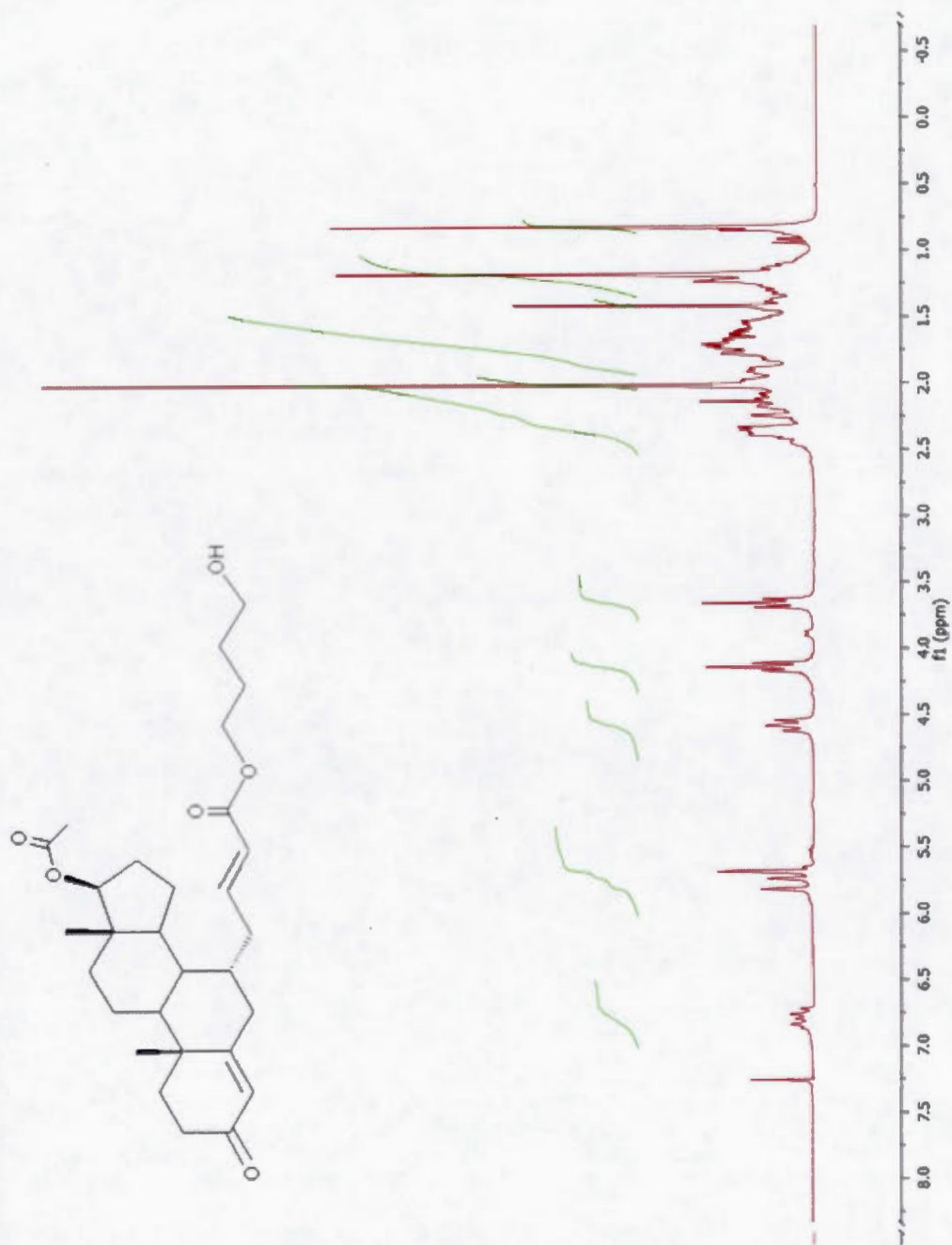


Spectre A.7 RMN- $^1\text{H}$  du dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'éthyle (**8**)



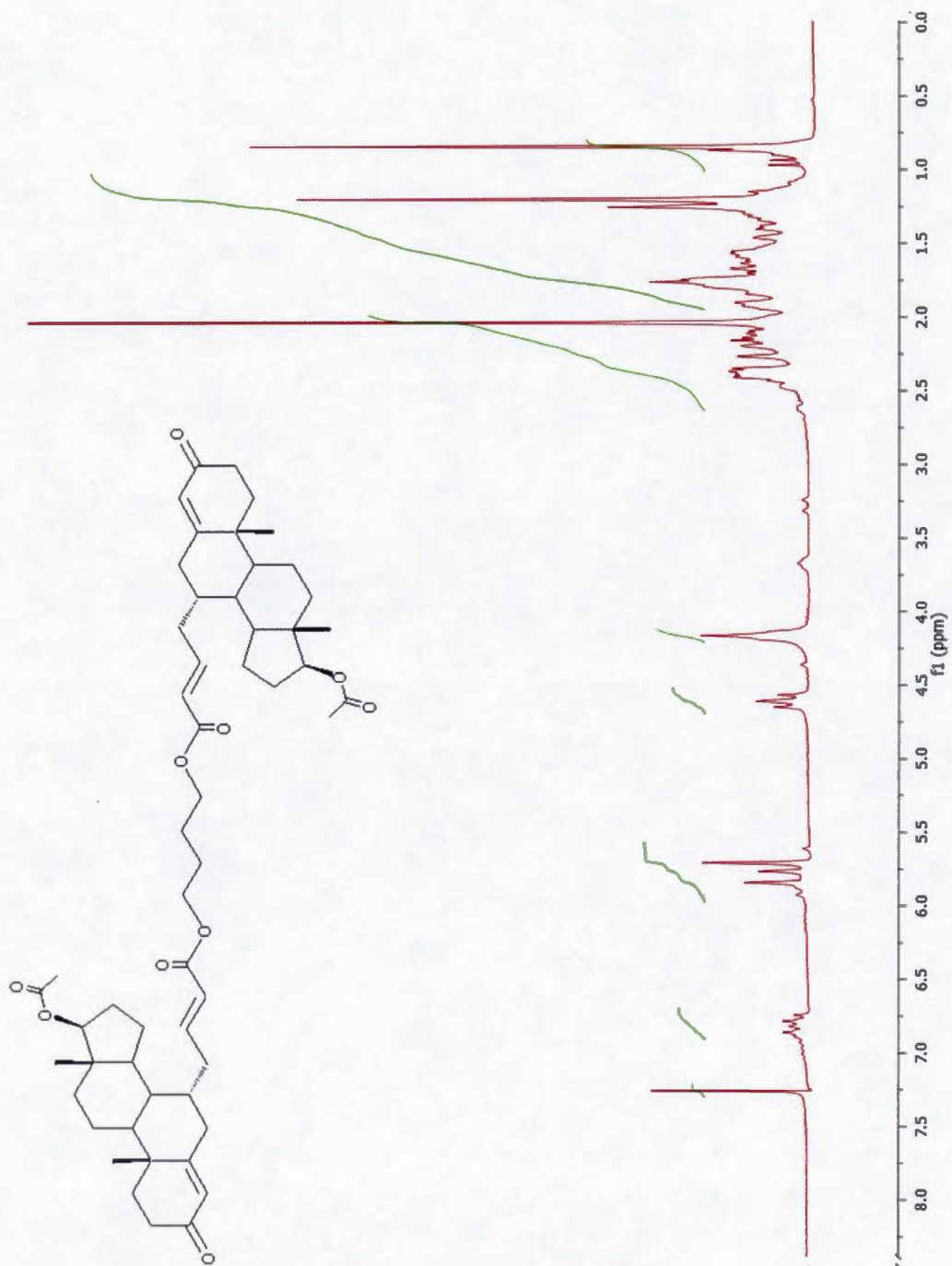
Spectre A.8 RMN- $^1\text{H}$  de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de 4-hydroxybutyle (9)

RMN- $^1\text{H}$  molécule 9:



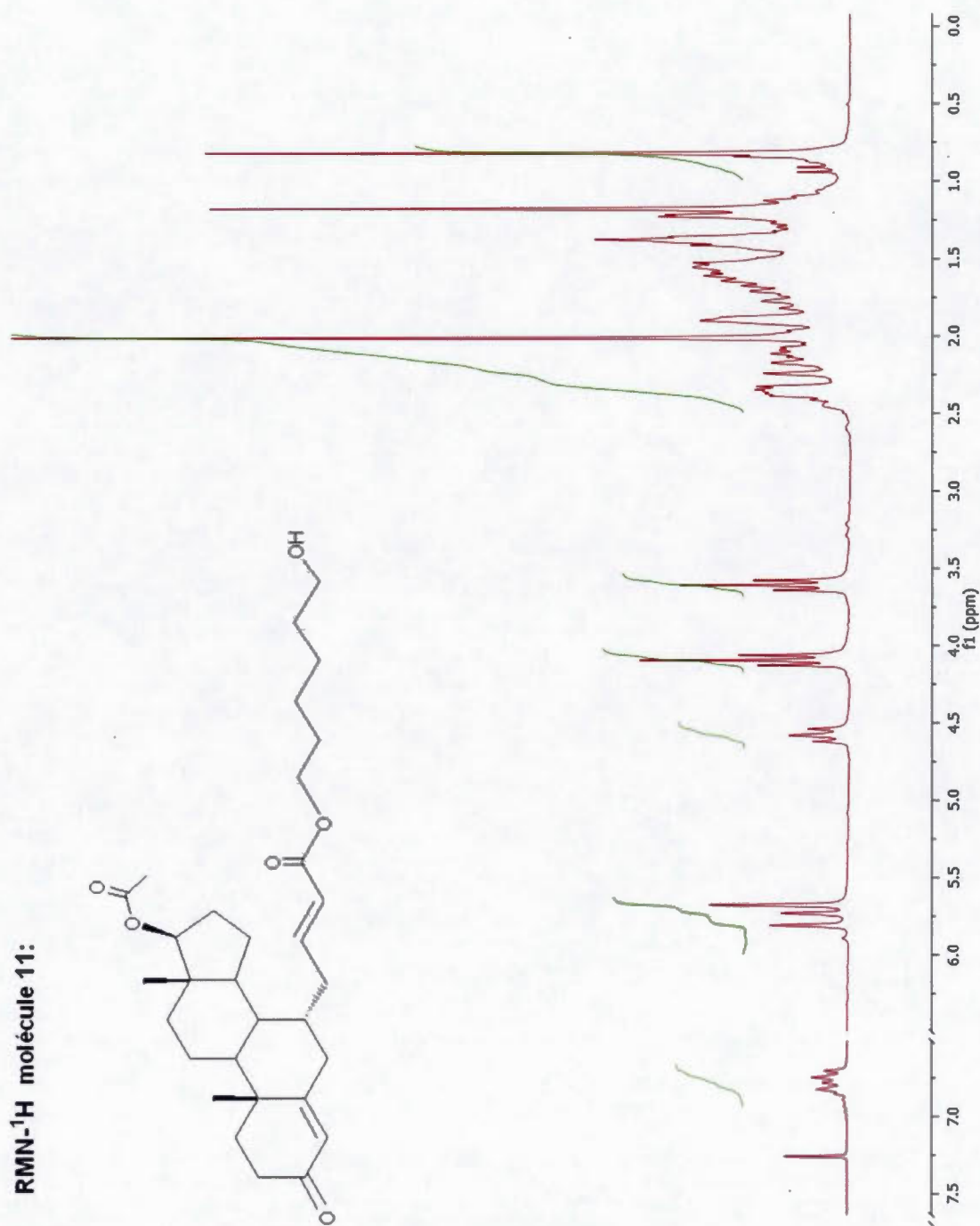
Spectre A.9 RMN- $^1\text{H}$  du dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de butyle (**10**)

RMN- $^1\text{H}$  molécule **10**:





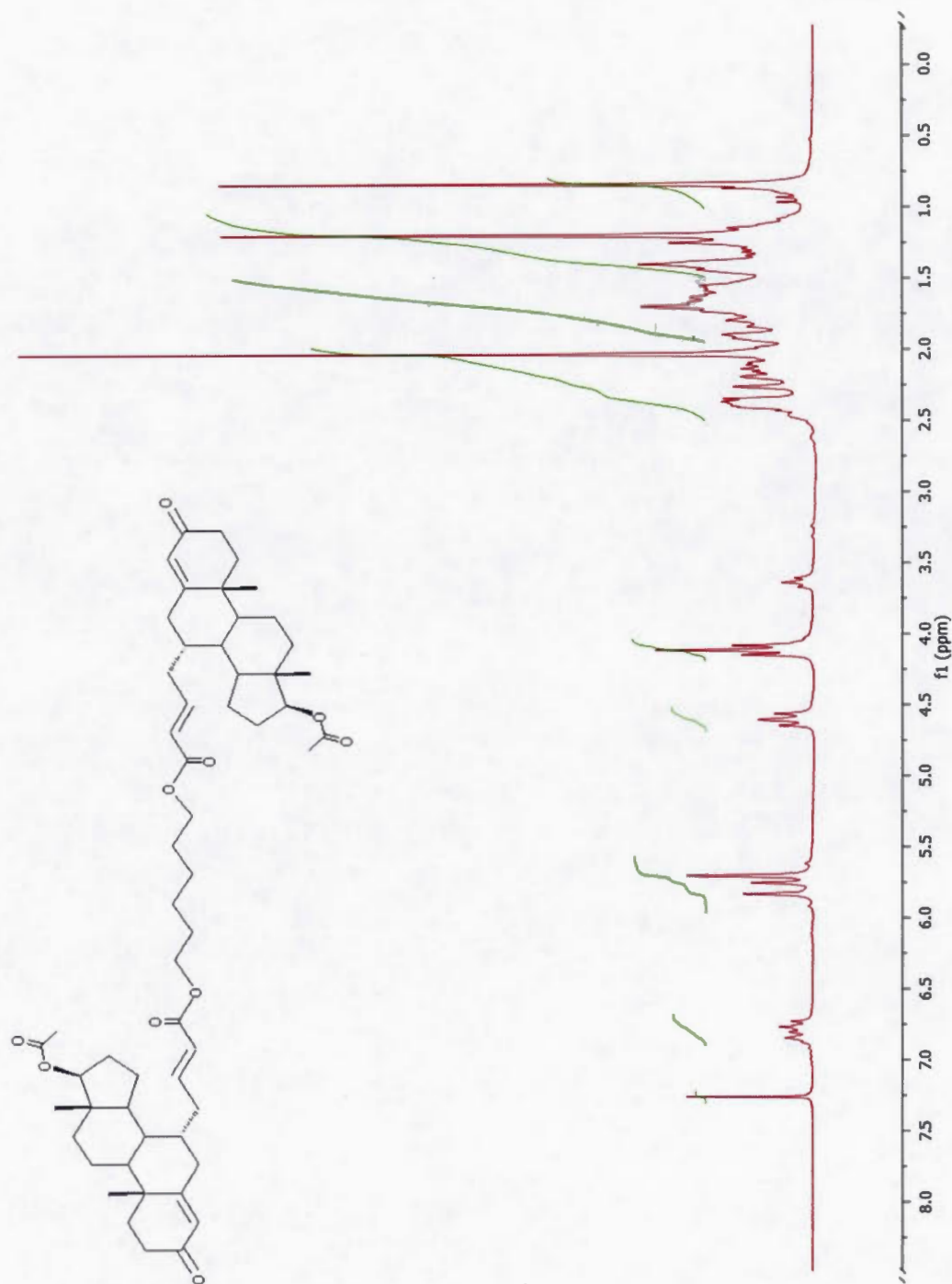
Spectre A.10 RMN- $^1\text{H}$  de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de 6-hydroxyhexyle (11)





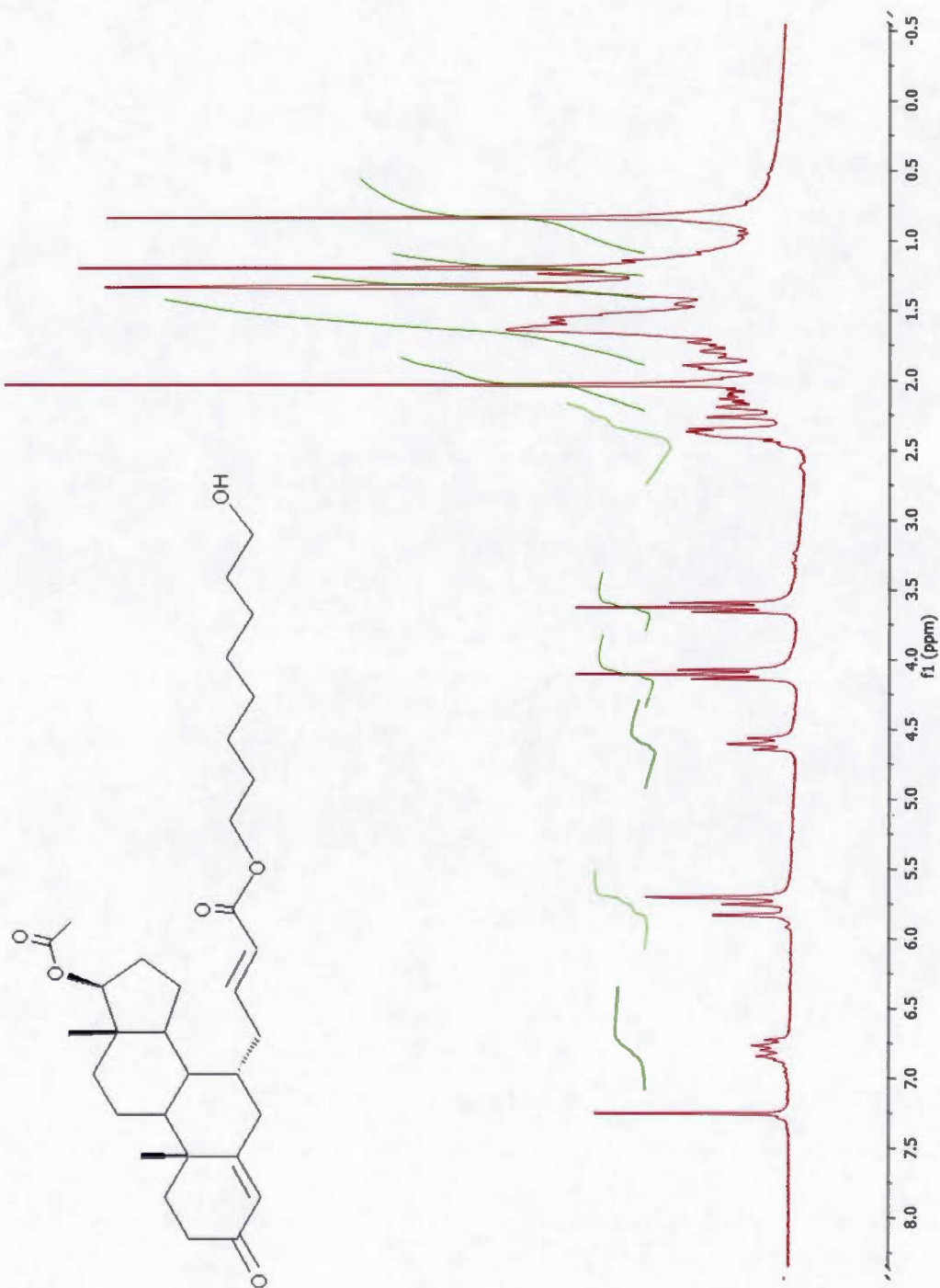
Spectre A.11 RMN- $^1\text{H}$  du dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'hexyle (12)

RMN- $^1\text{H}$  molécule 12:

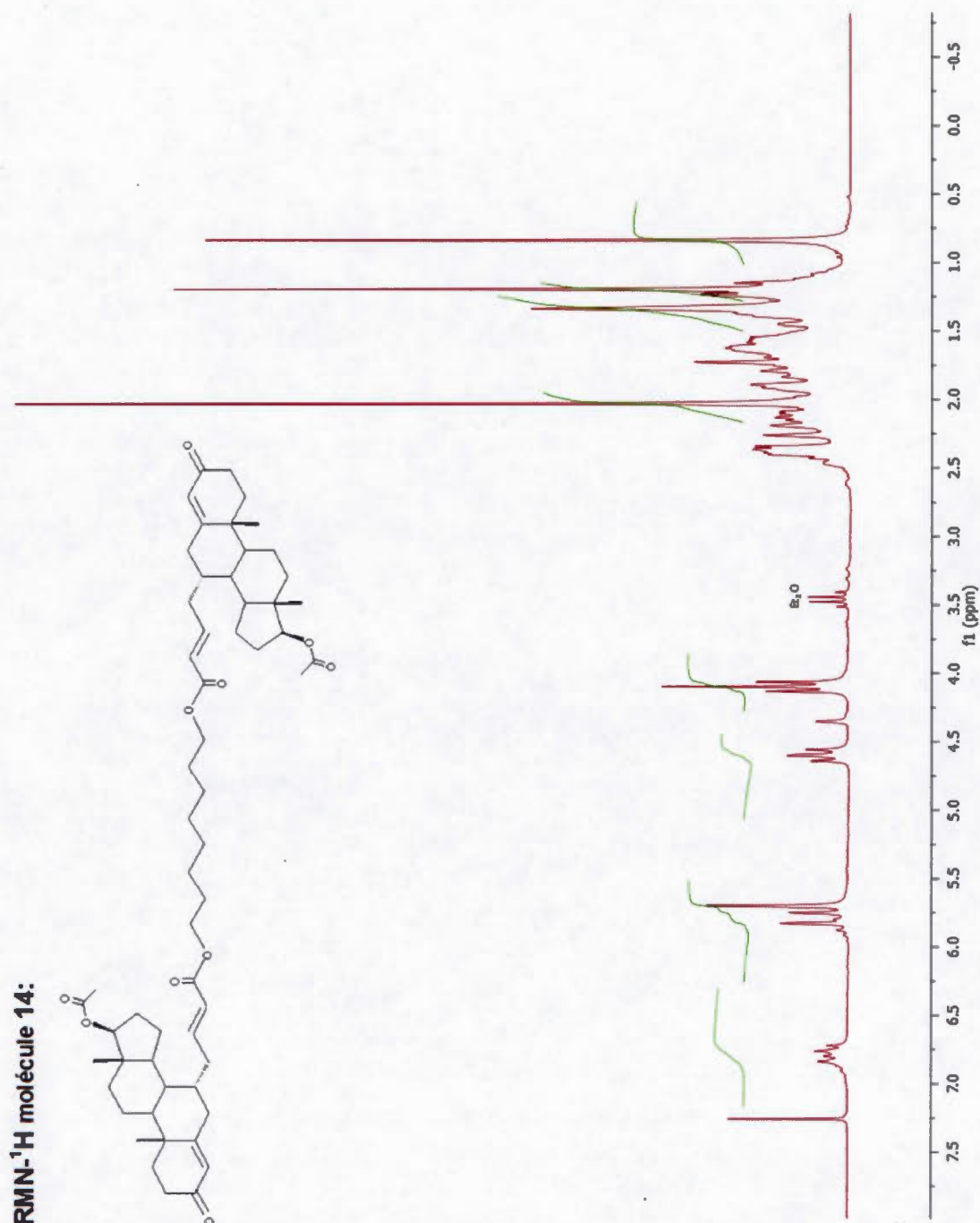


Spectre A.12 RMN-1H de l'ester trans-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de 8-hydroxyoctyle (**13**)

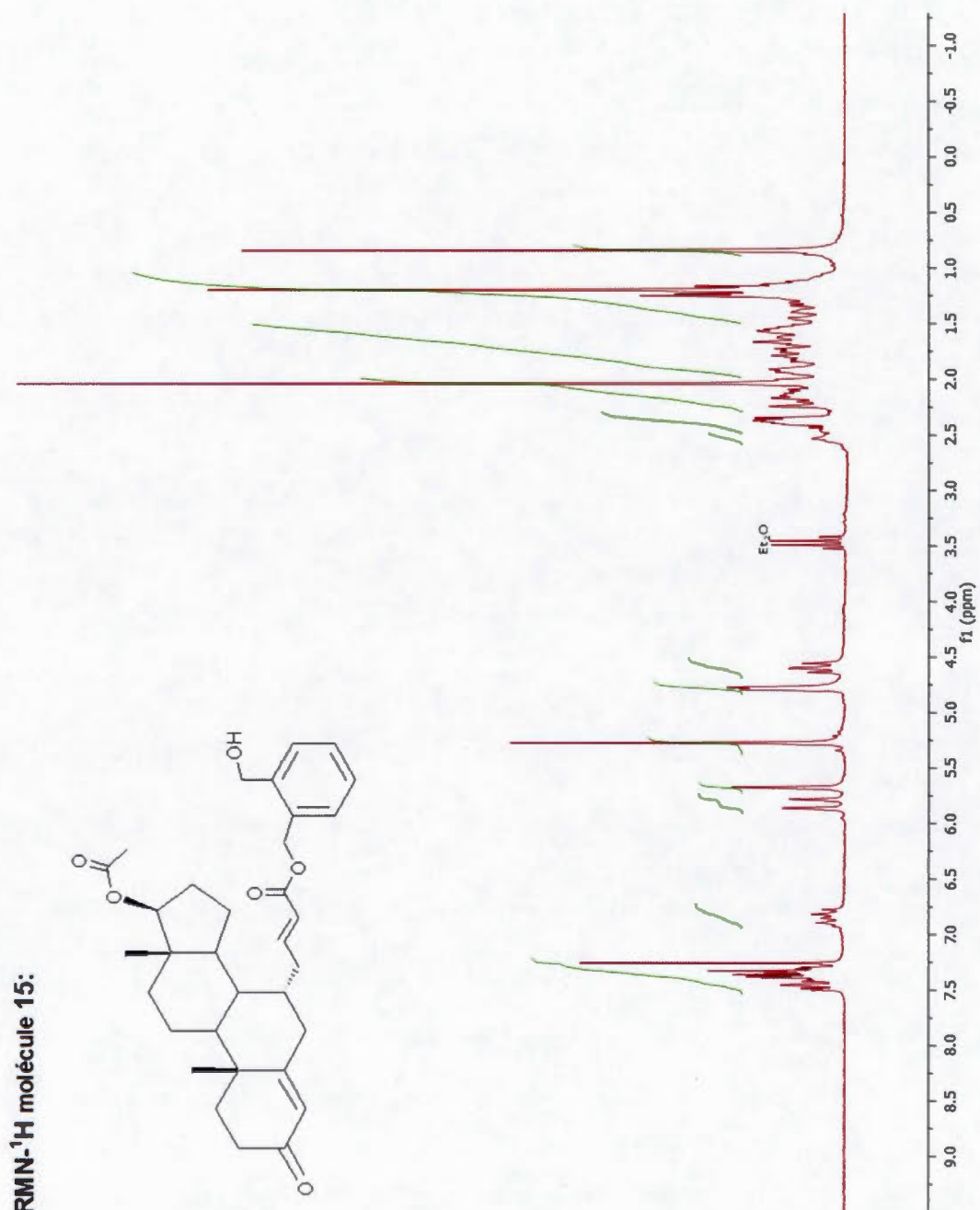
RMN-<sup>1</sup>H molécule **13**:



Spectre A.13 RMN-1H du dimère de l'ester trans-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'octyle (**14**)

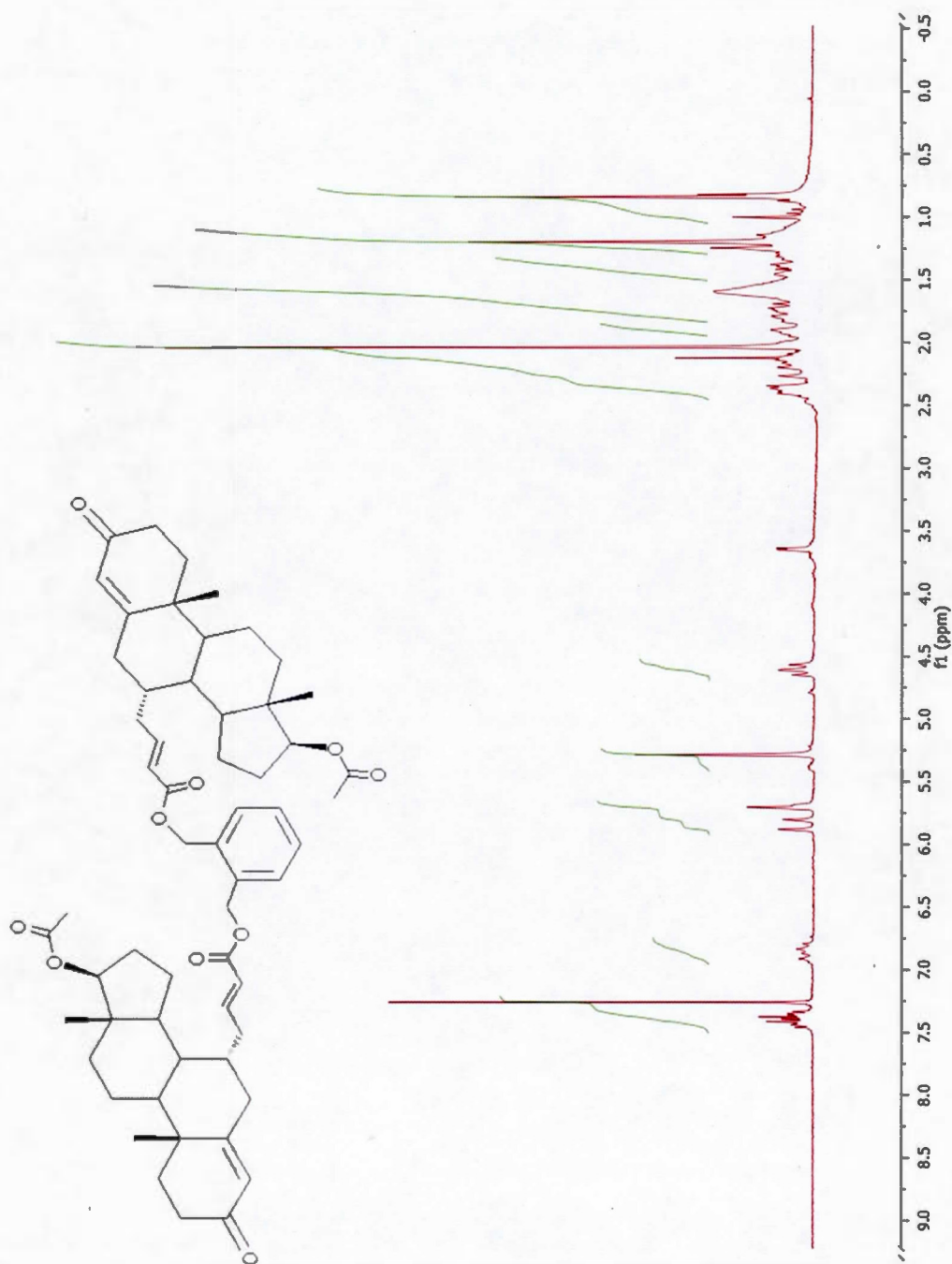


Spectre A.14 RMN-1H de l'ester trans-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'*ortho*-hydroxyméthyl benzène (15)



Spectre A.15 RMN-1H du dimère de l'ester trans-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'*ortho*-dihydroxyméthyl benzène (**16**)

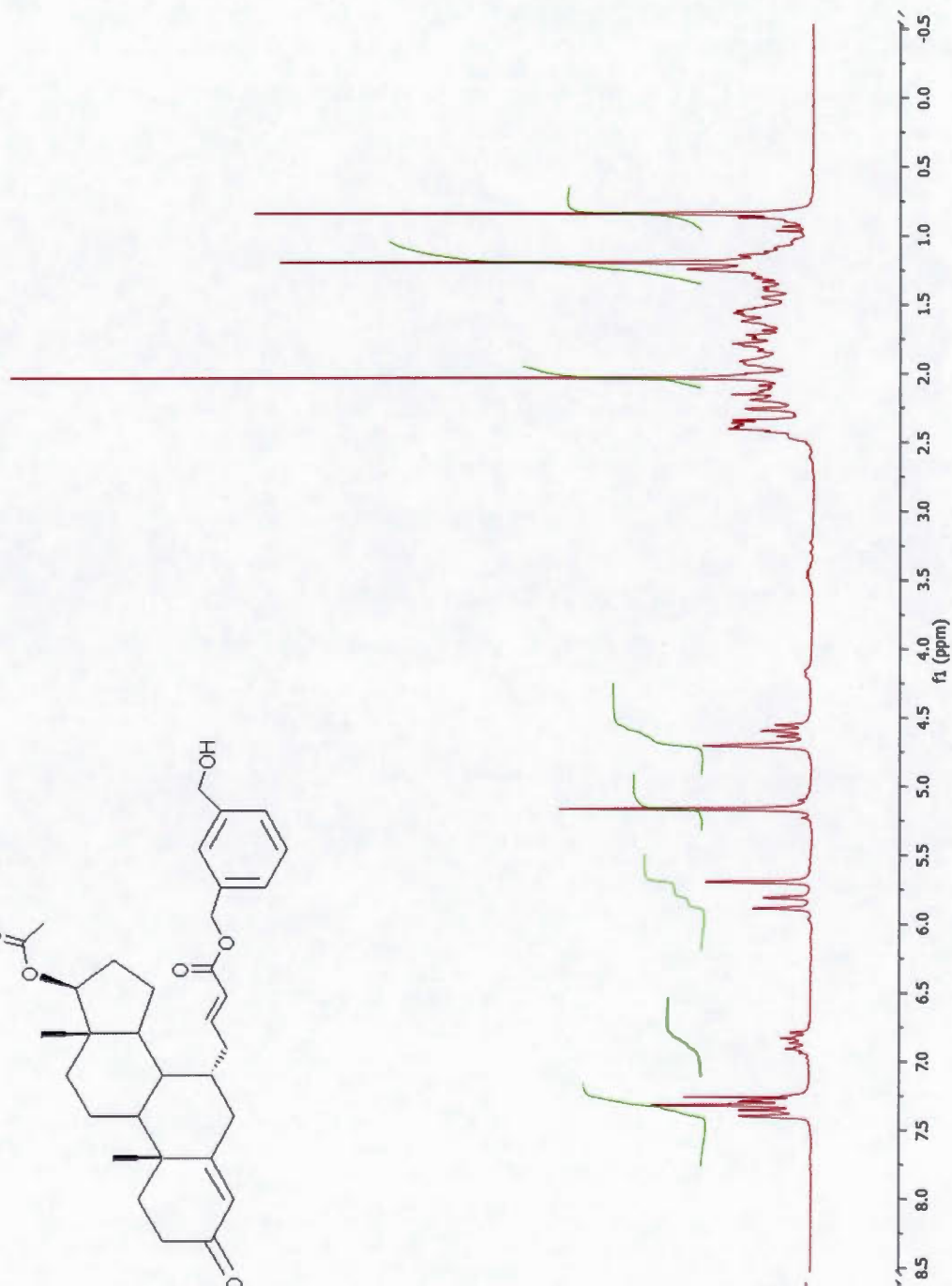
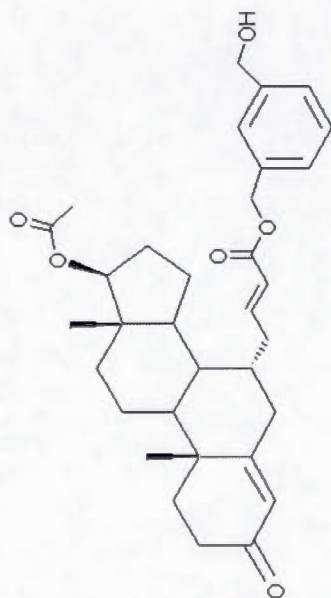
RMN-<sup>1</sup>H molécule **16**:





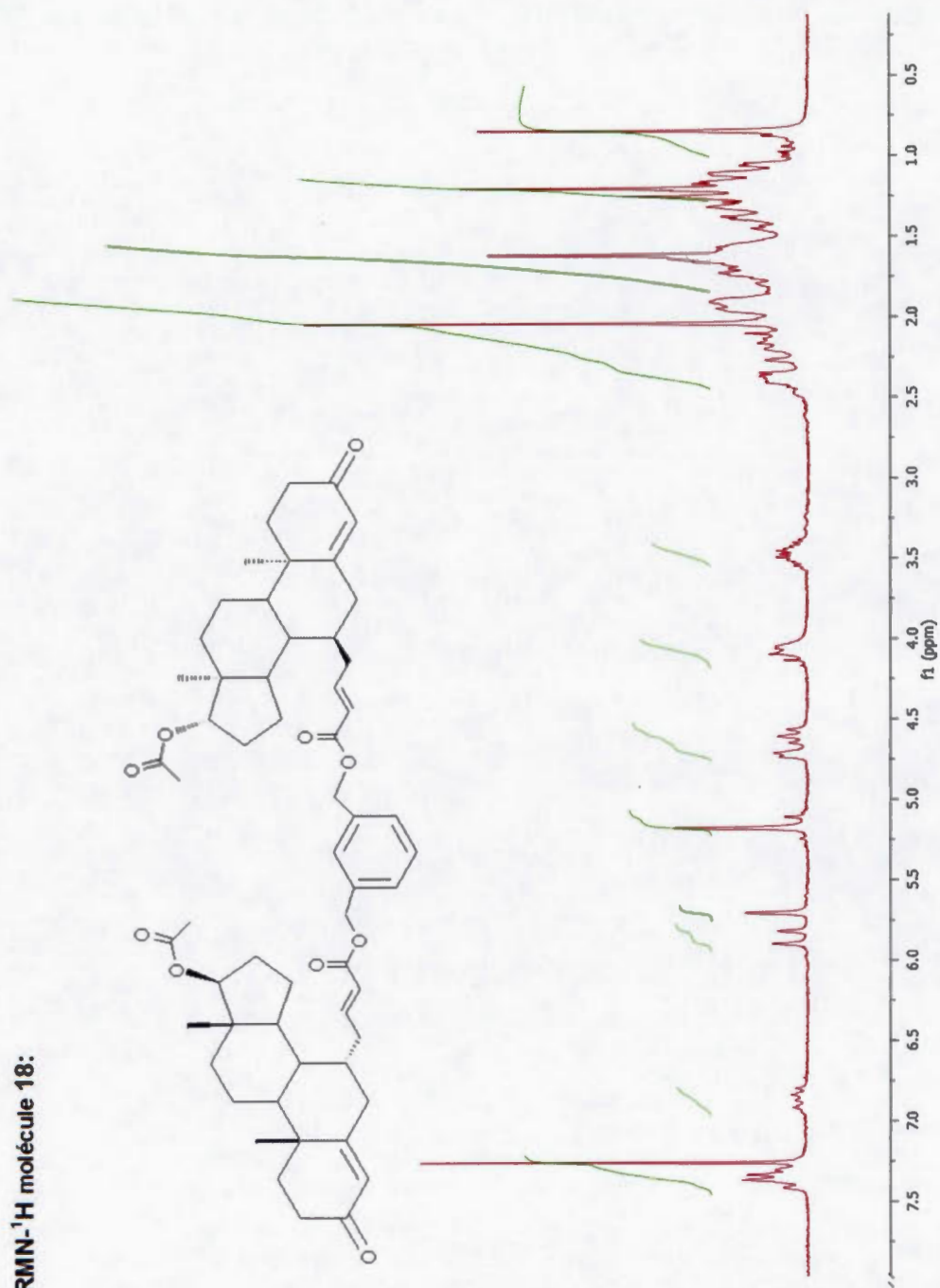
Spectre A.16 RMN-1H de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate du *mé*ta-hydroxyméthyl benzène (**17**)

RMN-<sup>1</sup>H molécule **17**:



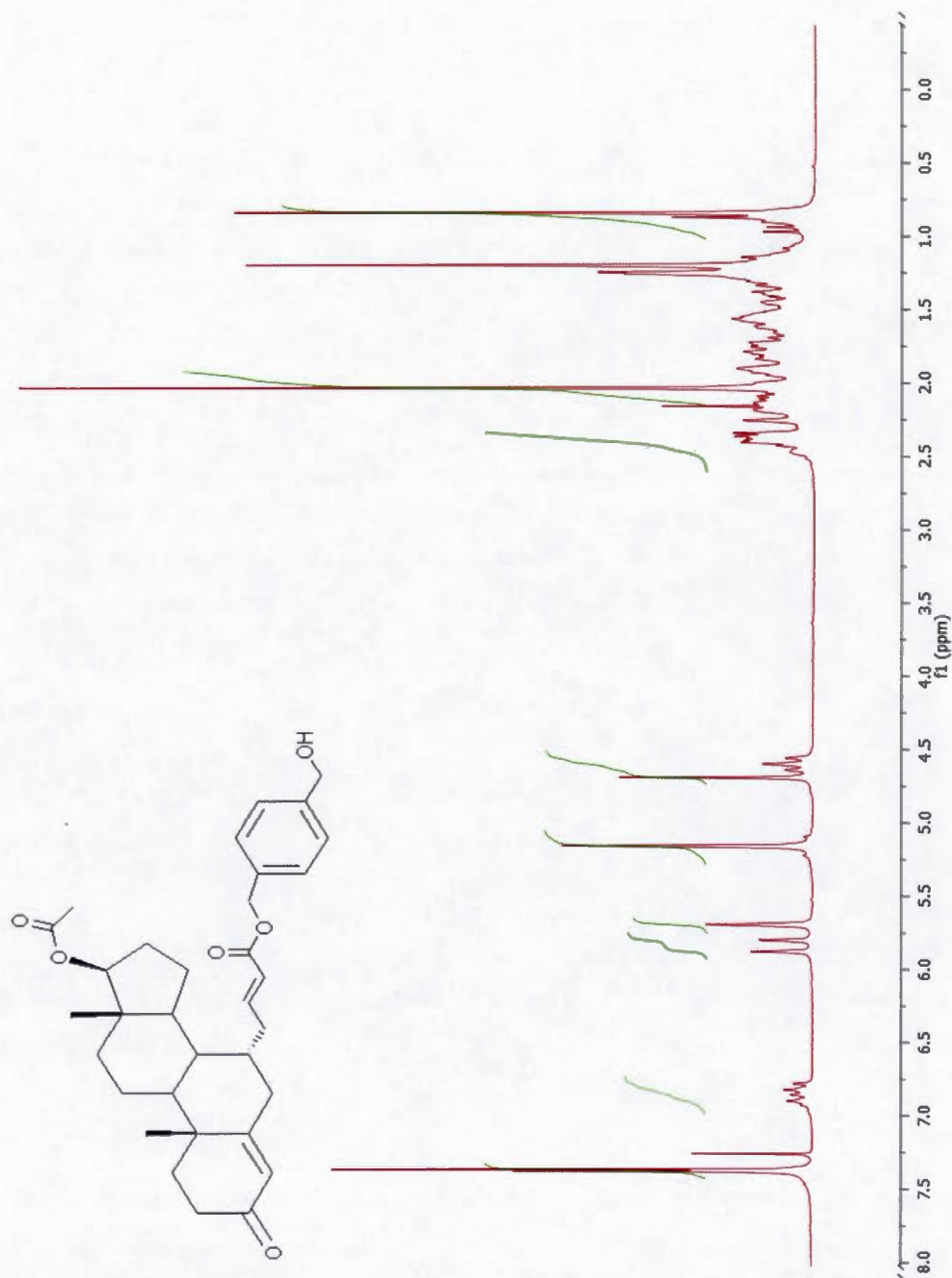


Spectre A.17 RMN- $^1\text{H}$  du dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate du *mé*ta-dihydroxyméthyl benzène (**18**)

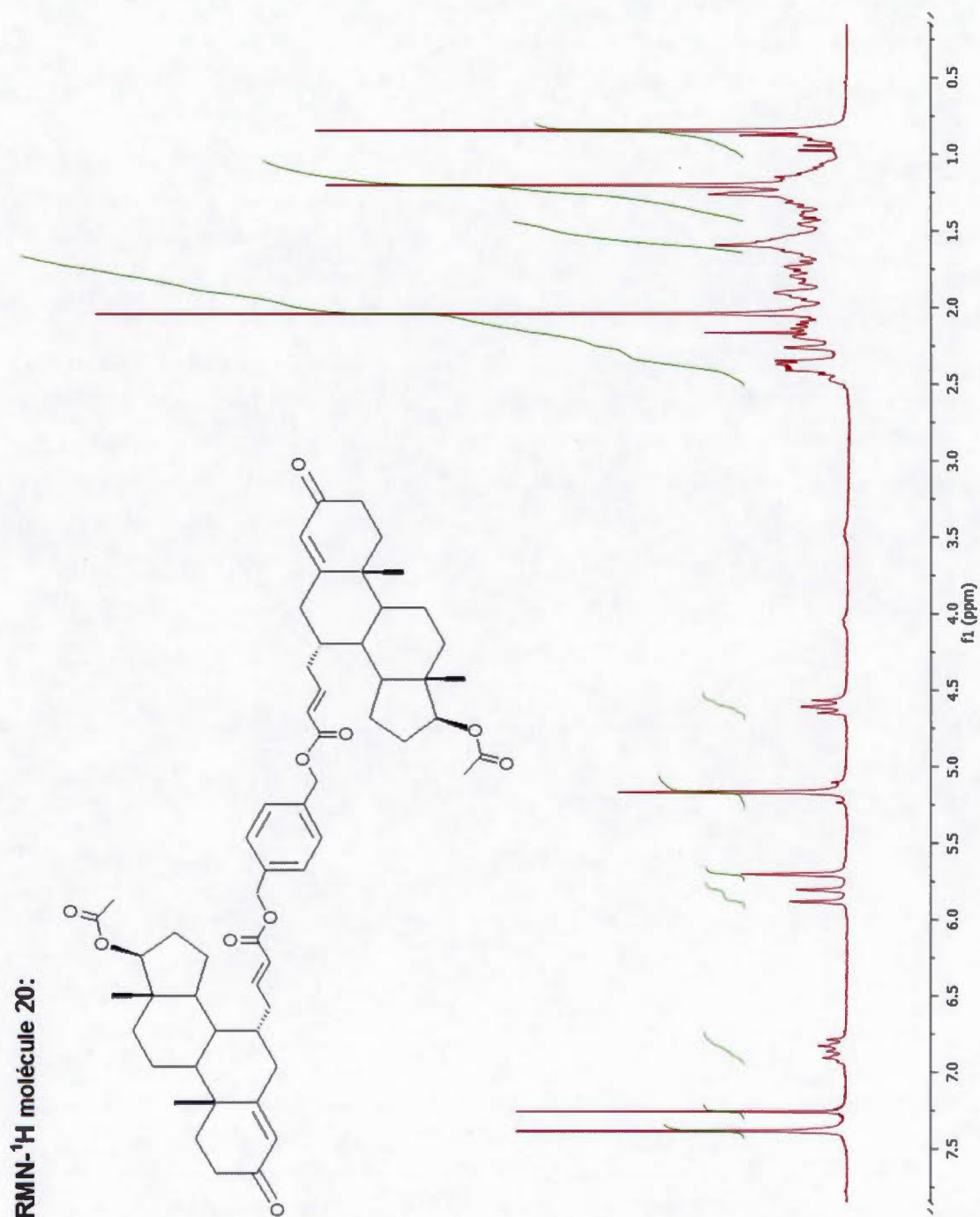


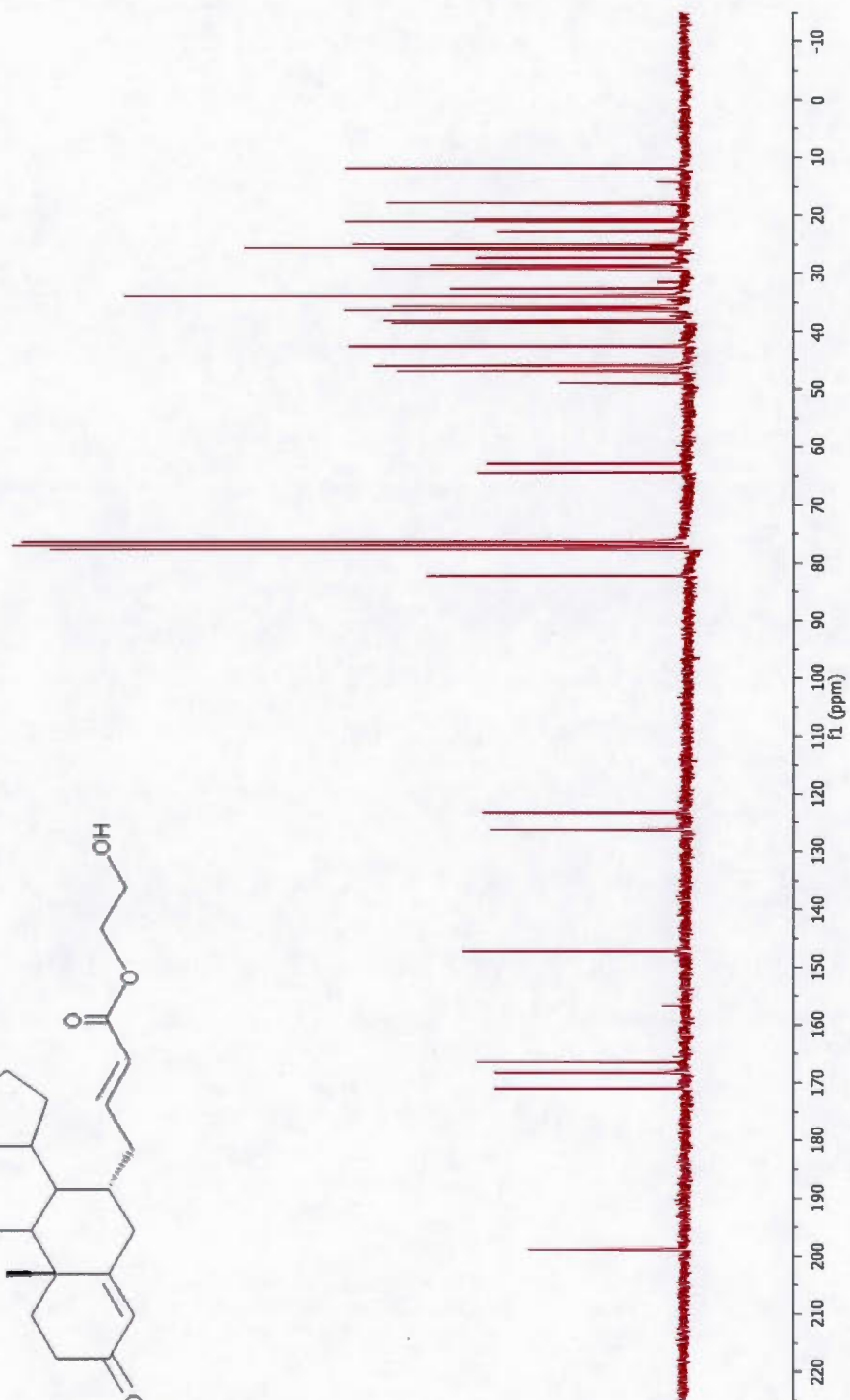
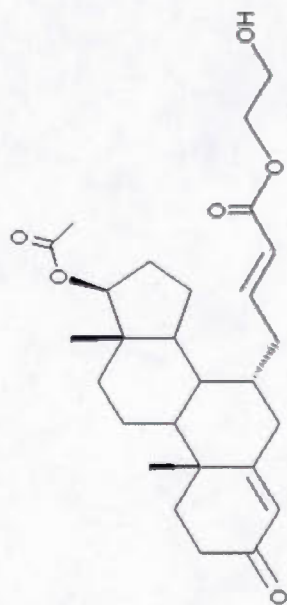
Spectre A.18 RMN- $^1\text{H}$  de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate du *para*-hydroxyméthyl benzène (19)

RMN- $^1\text{H}$  molécule 19:



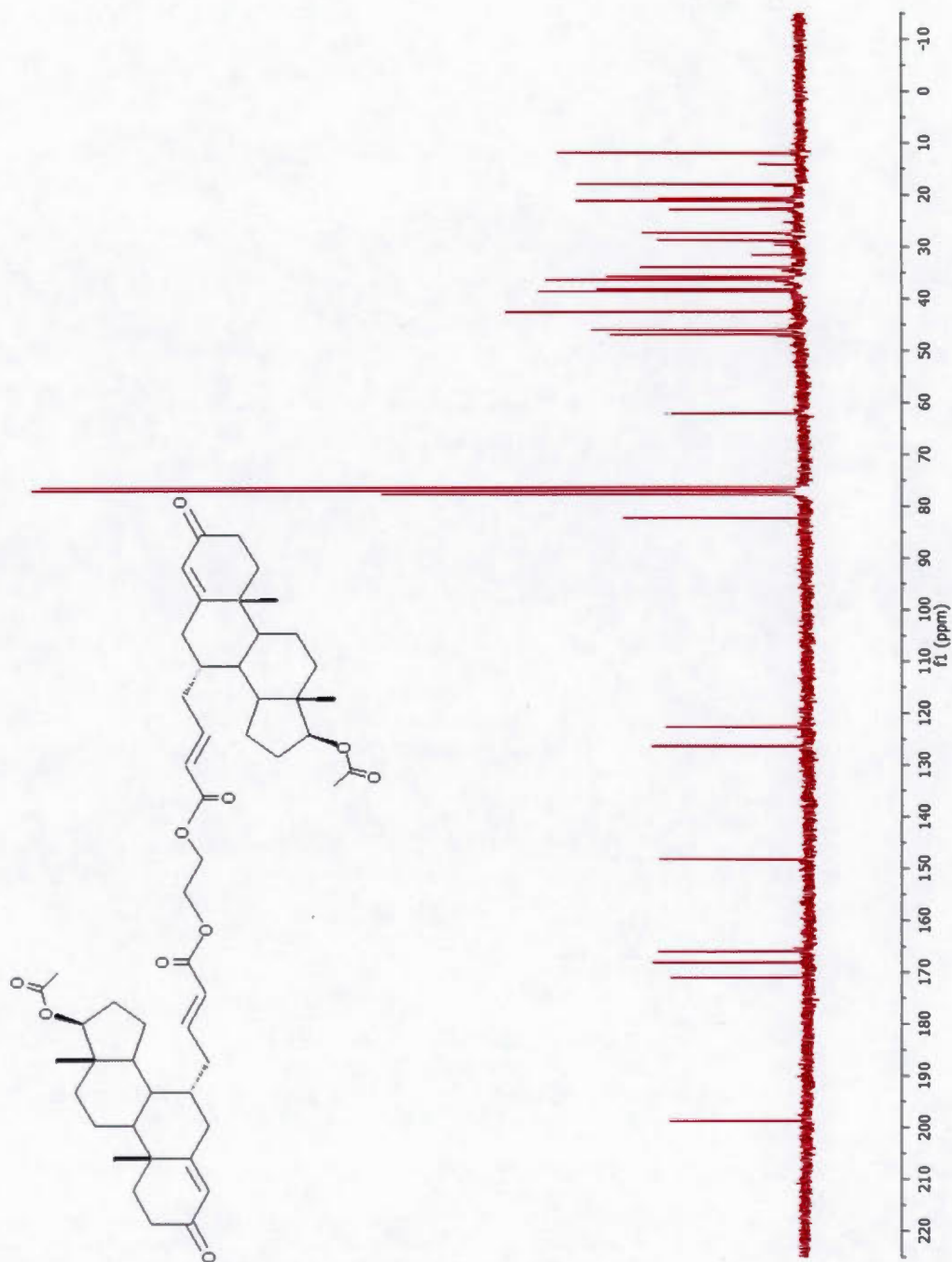
Spectre A.19 RMN- $^1\text{H}$  du dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate du *para*-dihydroxyméthyl benzène (**20**)





Spectre A.21 RMN- $^{13}\text{C}$  du dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'éthyle (8)

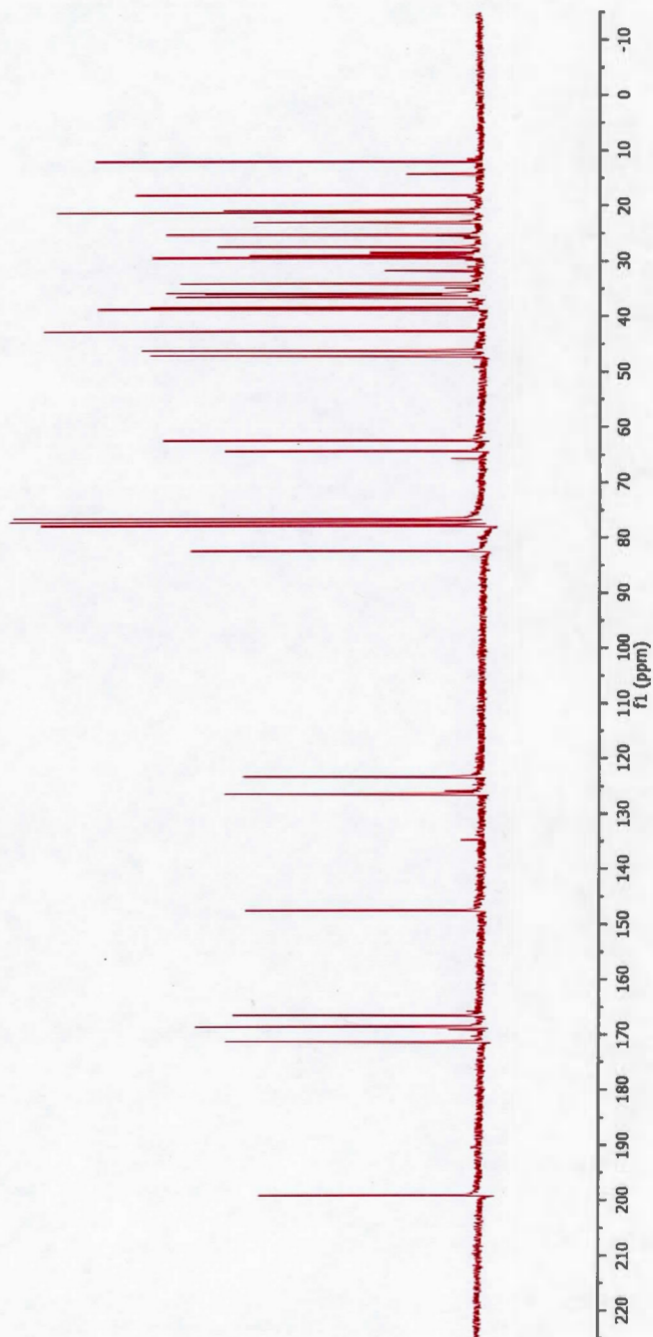
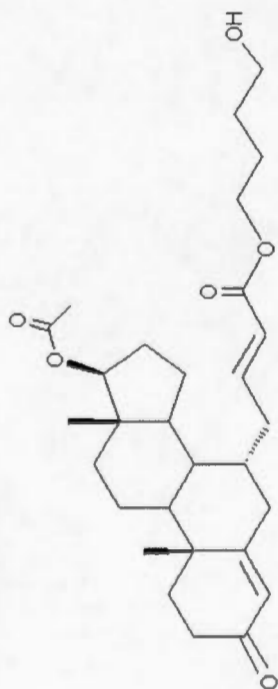
RMN- $^{13}\text{C}$  molécule 8:





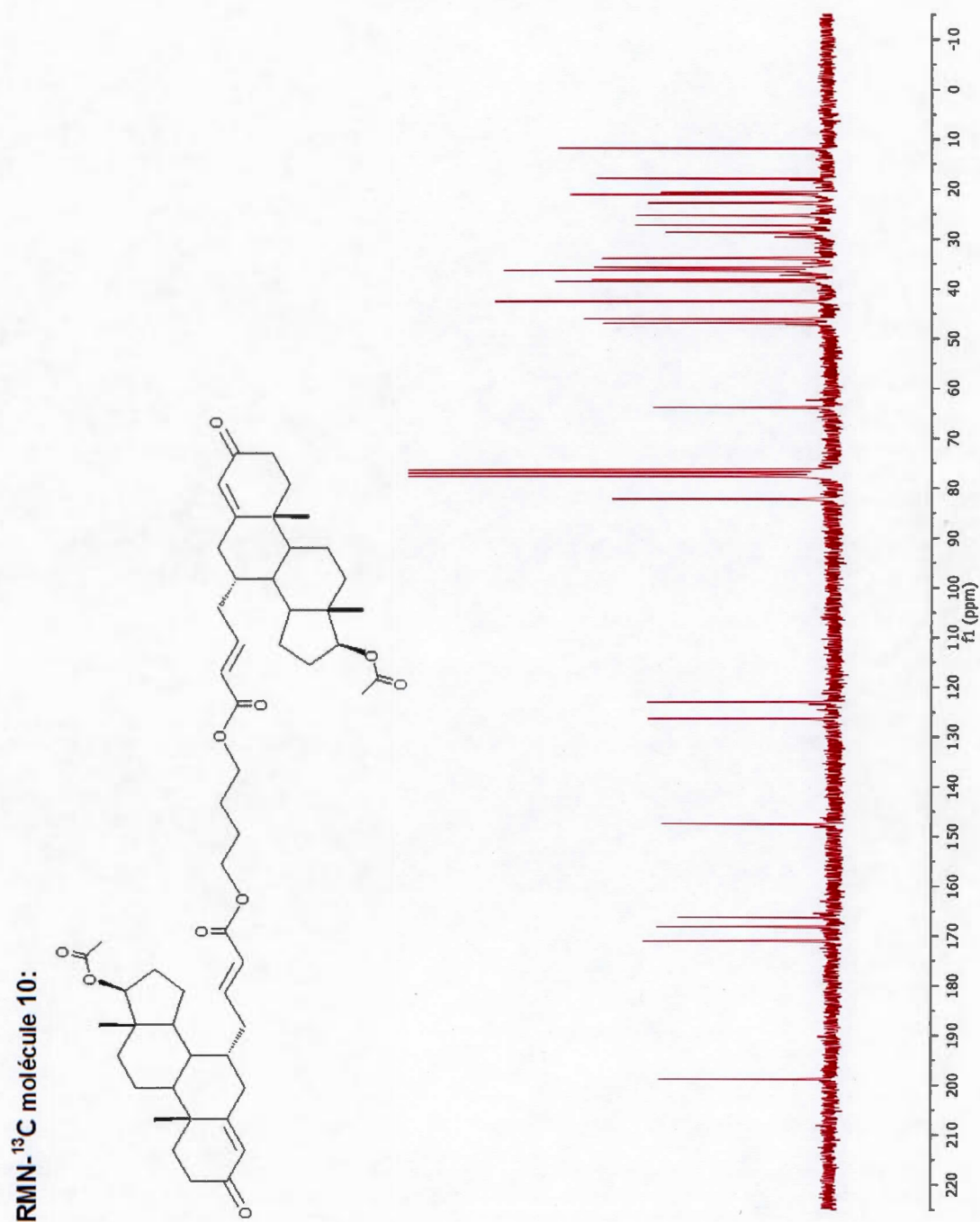
Spectre A.22 RMN- $^{13}\text{C}$  de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de 4-hydroxybutyle (9)

RMN- $^{13}\text{C}$  molécule 9:



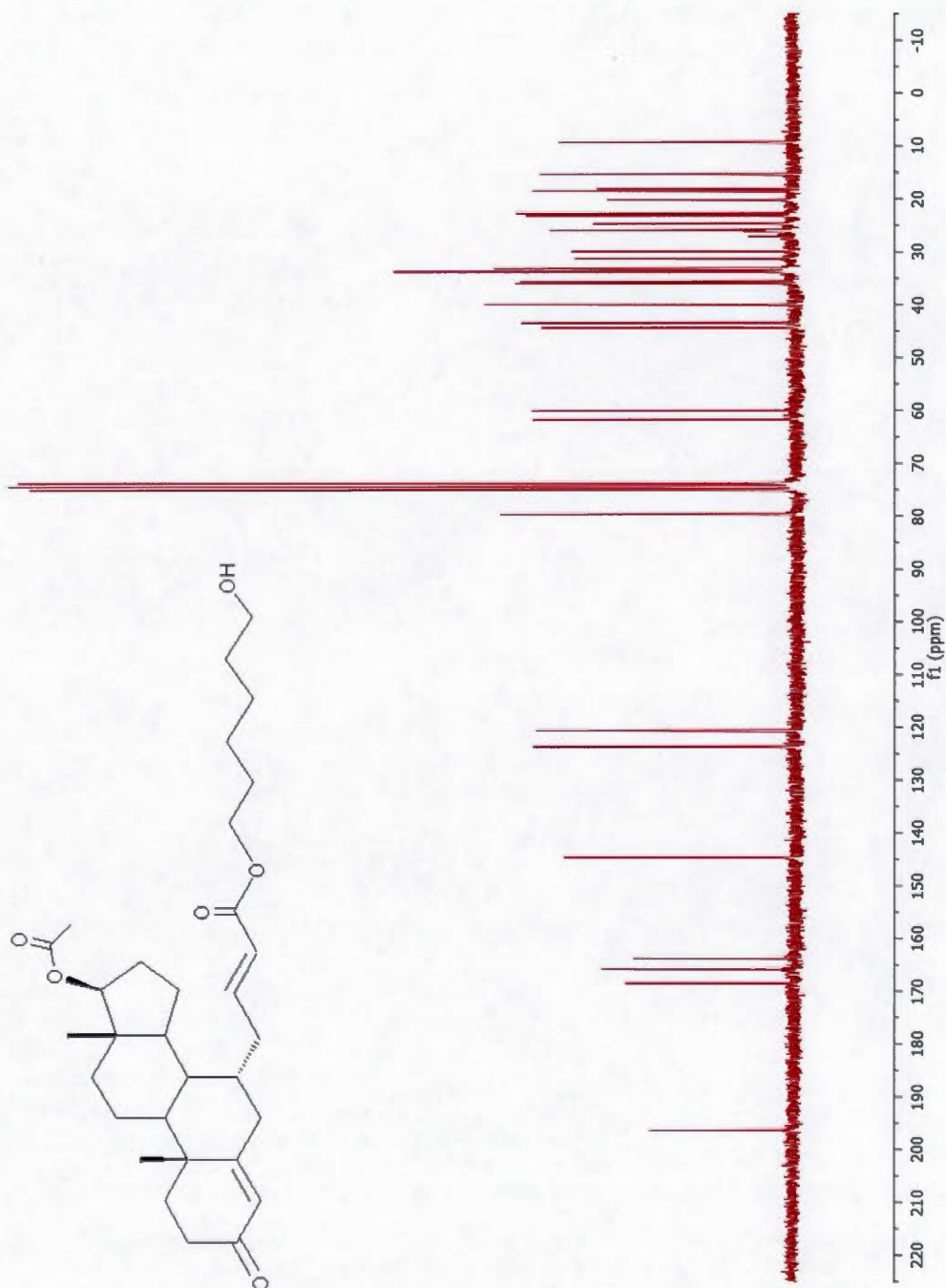


Spectre A.23 RMN- $^{13}\text{C}$  du dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de butyle (10)

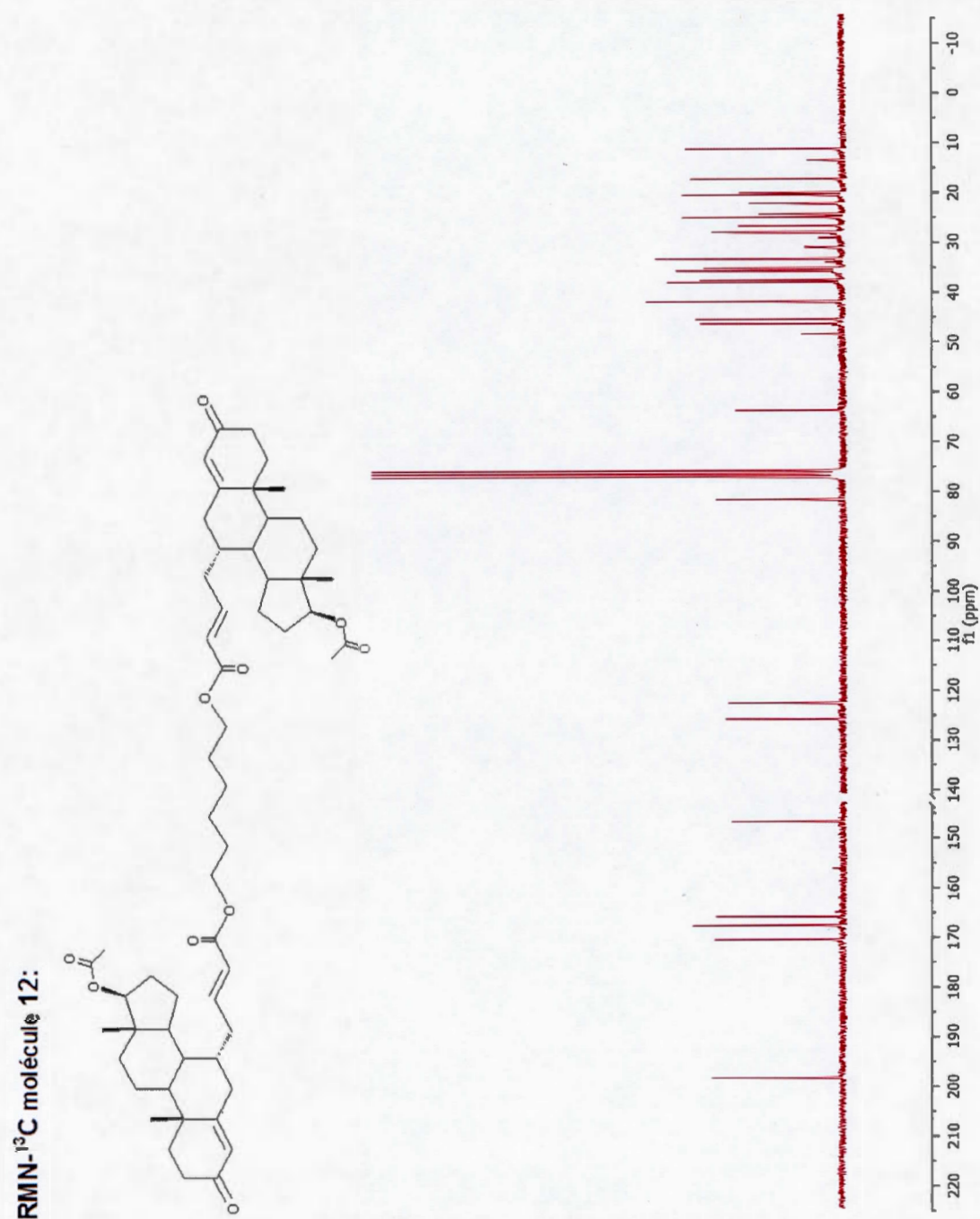


Spectre A.24 RMN-13C de l'ester trans-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de 6-hydroxyhexyle (11)

RMN-<sup>13</sup>C molécule 11:

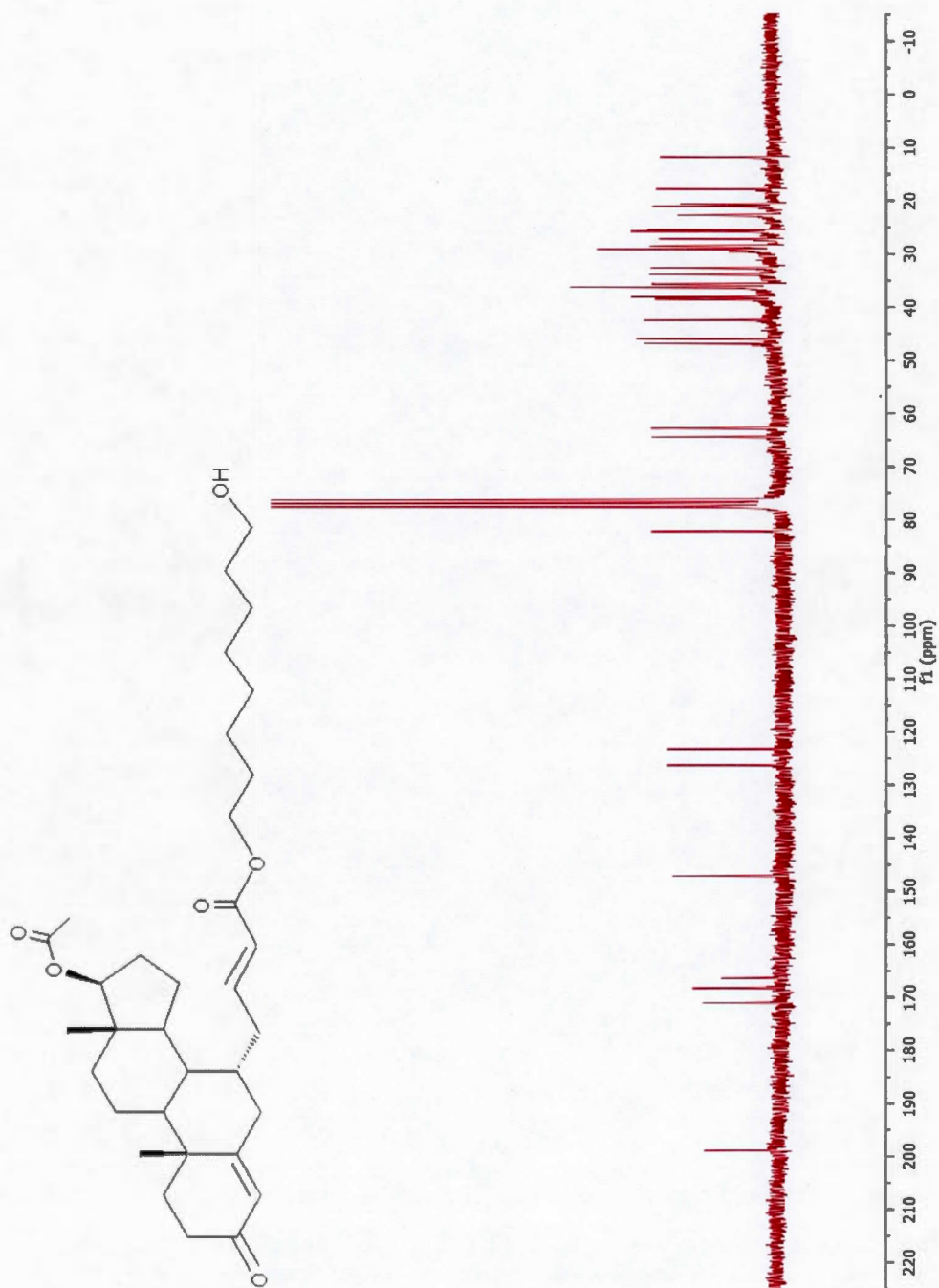


Spectre A.25 RMN- $^{13}\text{C}$  du dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'hexyle (12)



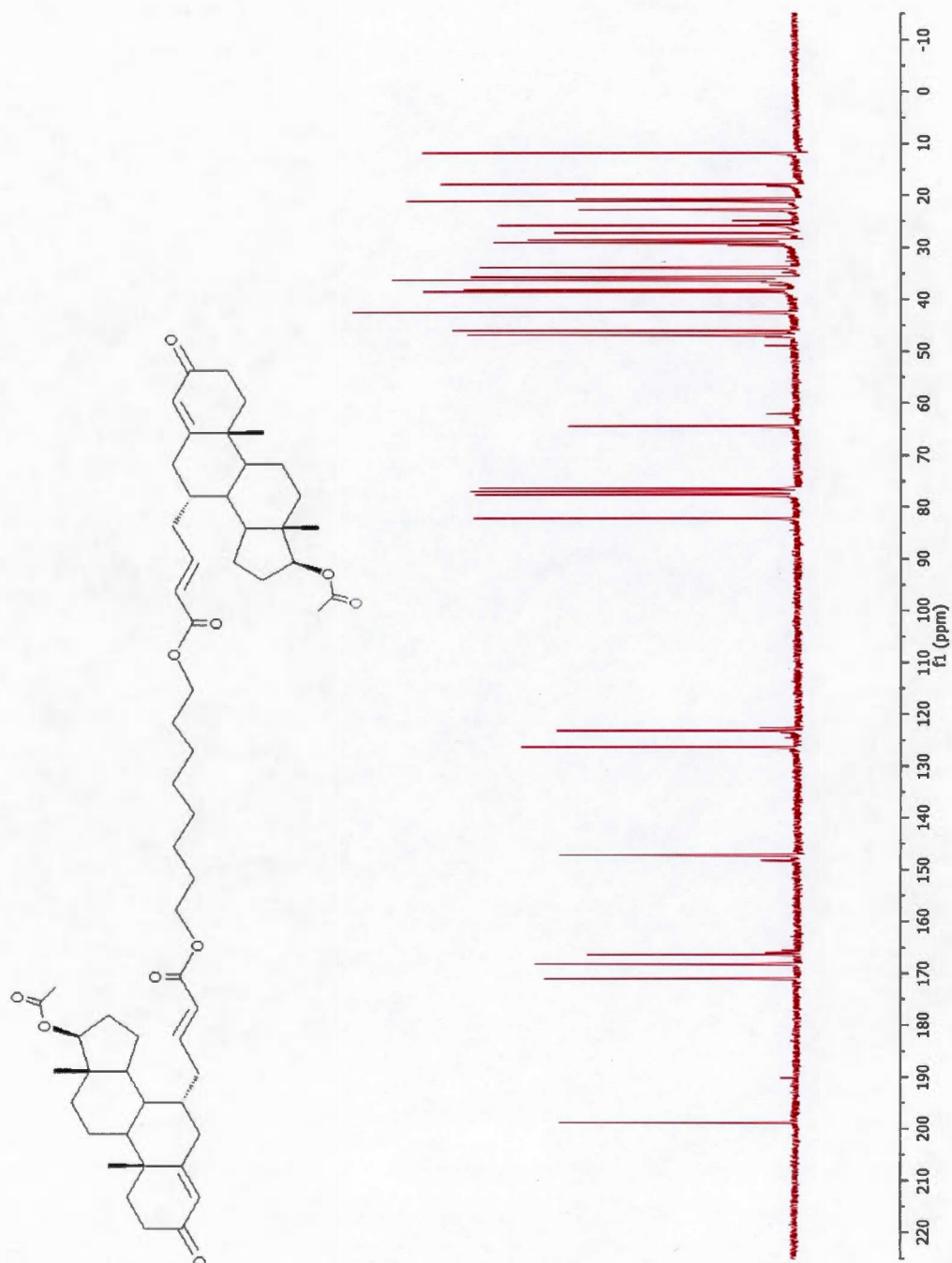
Spectre A.26 RMN- $^{13}\text{C}$  de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de 8-hydroxyoctyle (13)

RMN- $^{13}\text{C}$  molécule 13:



Spectre A.27 RMN- $^{13}\text{C}$  du dimère de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'octyle (**14**)

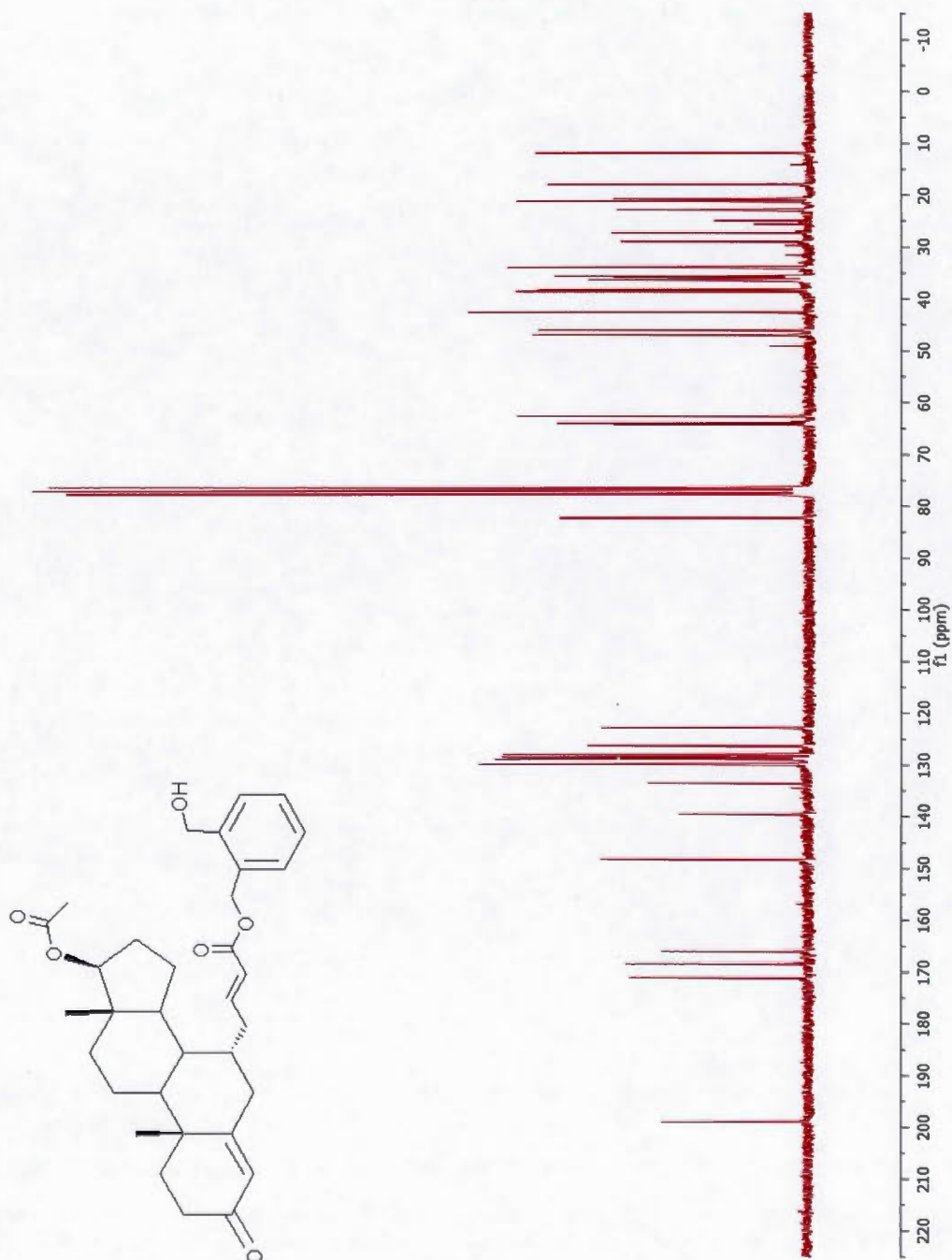
RMN- $^{13}\text{C}$  molécule **14**:





Spectre A.28 RMN- $^{13}\text{C}$  de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate d'*ortho*-hydroxyméthyl benzène (**15**)

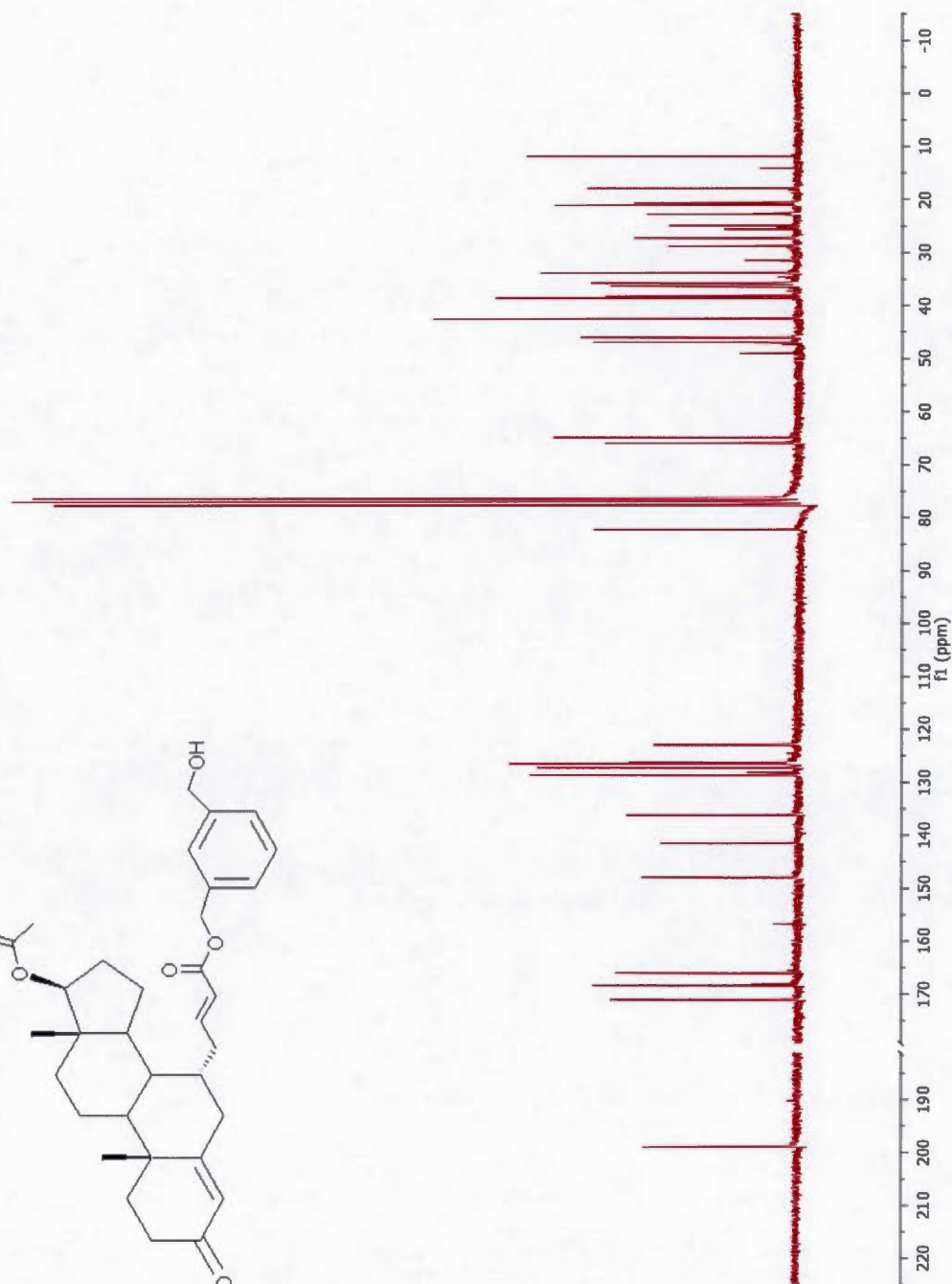
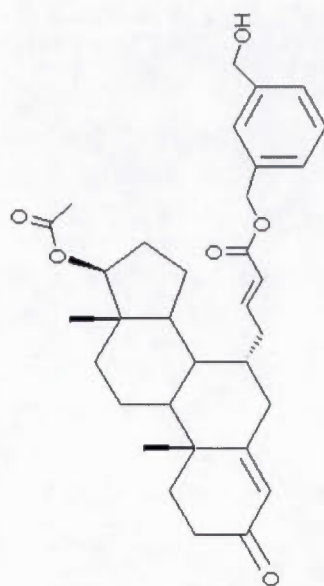
RMN- $^{13}\text{C}$  molécule **15**:





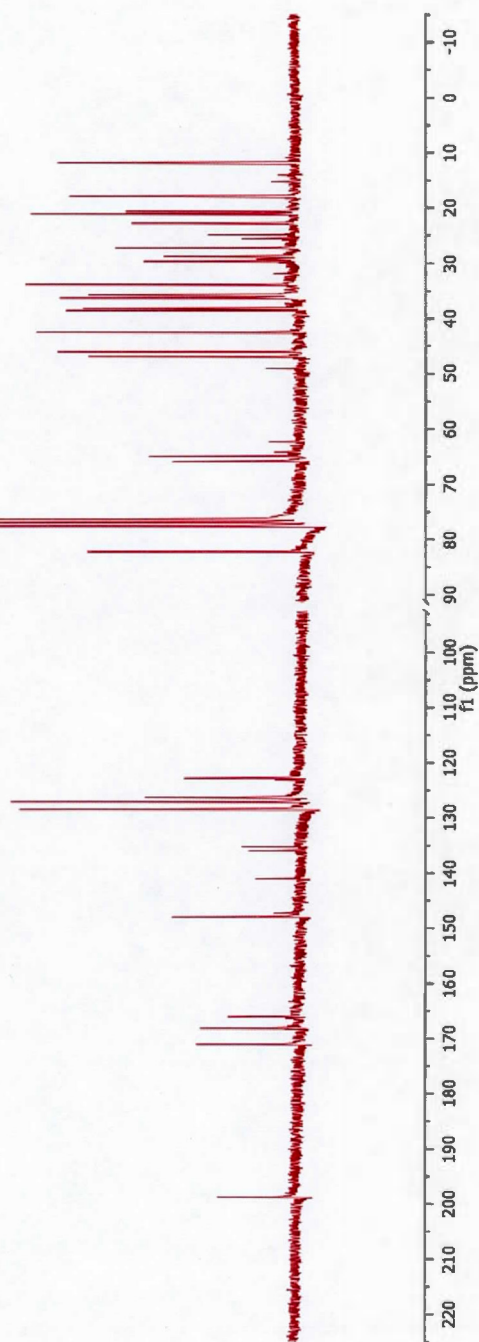
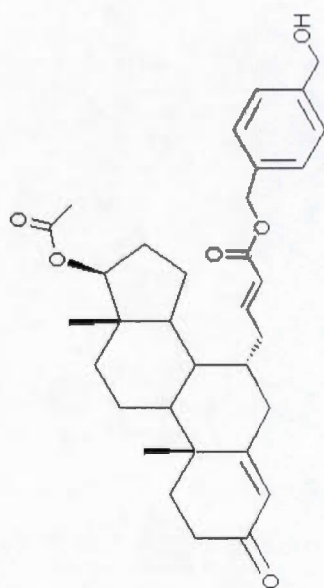
Spectre A.29 RMN- $^{13}\text{C}$  de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate du *mé*ta-hydroxyméthyl benzène (17)

RMN- $^{13}\text{C}$  molécule 17:



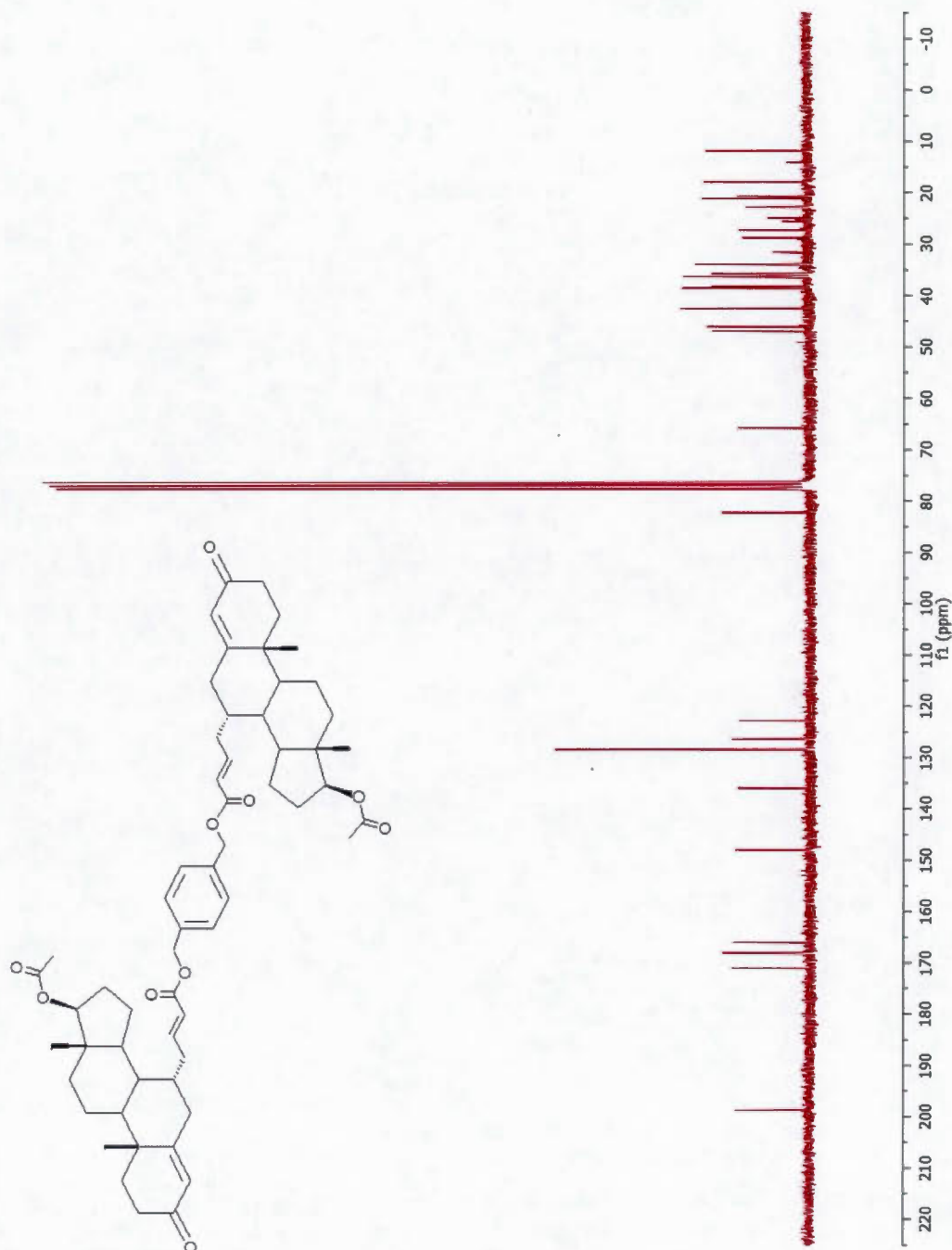
Spectre A.30 RMN- $^{13}\text{C}$  de l'ester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate de *para*-hydroxyméthyl benzène (**19**)

RMN- $^{13}\text{C}$  molécule **19**:



Spectre A.31 RMN- $^{13}\text{C}$  du dimère de diester *trans*-4-(androst-4-ène-17 $\beta$ -acétoxy-3-one-7 $\alpha$ -yl)-but-2-énoate du *para*-dihydroxyméthyl benzène (**20**)

RMN- $^{13}\text{C}$  molécule **20**:



## RÉFÉRENCES

- ACS (American Cancer Society). (consulté en octobre 2014). Prostate cancer - patient education and support. *American Cancer Society*. Récupéré de <http://www.cancer.org/cancer/prostatecancer/index>
- Armarego, W.L.E., et Lin Chai, C.L. (2003). *Purification of laboratory chemicals*. Butterworth-Heinemann (Elsevier Science, 5<sup>th</sup> Edition). ISBN : 0-7506-7571-3. 634 p.
- Askew, E.B., Gampe, Jr R.T. et Stanley, T.B. (2007). Modulation of androgen receptor activation function 2 by testosterone and dihydrotestosterone. *J. Biol. Chem.*, 282(35), 25801-25816.
- Aus, G. (2005). Hormonal treatment for prostate cancer. *Dept. of Urology, Sahlgrens University Hospital, Göteborg*. Récupéré de <http://www.uroweb.org/fileadmin/ESU/Aus.pdf>
- Barbosa, F., Miranda, M., Rizo, W., Bertoni, B., Bastos, J., Marins, M. et Fachin, A. (2014). Cytotoxic activity of glycoalkaloids extract from fruits of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. *BMC Proceedings*, 8(Suppl 4), p. 7.
- Bastien, D., Leblanc, V., Asselin, E. et Bérubé, G. (2010). First synthesis of separable isomeric testosterone dimers showing differential activities on prostate cancer cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 20(7), 2078-2081.
- Bastien, D. (2008). Synthèse de nouveau analogues de la testostérone pour le traitement du cancer de la prostate. *Mémoire de maîtrise, Trois-Rivières, Université du Québec à Montréal, QC*, 110 p.
- Basu, S. et Tindall, D.J. (2010). Androgen action in prostate cancer. *Horm. Canc.*, 1, 223-228.

- Bérubé, G. (2006). Natural and synthetic biologically active dimeric molecules: anticancer agents, anti-HIV agents, steroid derivatives and opioid antagonists. *Curr. Med. Chem.*, 13(2), 131-154.
- Blagg, B.S.J. et Hadden, M.K. (2008). Dimeric approaches to anti-cancer chemotherapeutics. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 8(7), 807-816.
- Breton, R., Pereira de Jésus-Tran, K., Côté, P.L., Cantin, L., Blanchet, J. et Labrie, F. (2012). Comparison of crystal structures of human androgen receptor ligand-binding domain complexed with various agonists reveals molecular determinants responsible for binding affinity. *Protein Sci.*, 15, 987-999.
- Burlison, J.A. et Blagg, B.S.J. (2006). Synthesis and evaluation of coumermycin A1 analogues that inhibit the Hsp 90 protein folding machinery. *Org. Lett.*, 12, 8(21), 4855-4858.
- CDER (Center for Drug Evaluation and Research). (2006). Guidance for industry antiviral product development — conducting and submitting virology studies to the agency U.S. department of health and human services. Récupéré de <http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/05d-0183-gdl0002-01.pdf>
- Claessens, F., Helsen, C., Van den Broeck, T., Voet, A., Prekovic, S., Van Poppel, H. et Joniau, S. (2014). Androgen receptor antagonists for prostate cancer therapy *Endocr. Relat. Cancer*, 21(4), 105-118.
- De Groot, A. et Koert, W. (2006). *Ligand-androgen receptor complexes*. Het Anabolenboek (Chapitre 7). Wageningen, Pays-Bas. Récupéré de <http://www.ergogenics.org/anabolenboek>
- Delvenne, C. et Pasleau, F. (consulté en septembre 2014). Cancer de la prostate. *Faculté de Médecine de l'Université de Liège, Centre Hospitalier Universitaire* Récupéré de <http://www.ebm.lib.ulg.ac.be/prostate/patient.htm>
- Deutsche Krebshilfe. (2011). Der Prostatakrebs-Antworten, Hilfen, Perspektiven. *Die blauen Ratgeber 017, Deutsche Krebshilfe e.V (Bonn)*, Récupéré de [http://www.krebshilfe.de/fileadmin/Inhalte/Downloads/PDFs/Blaue\\_Ratgeber/017\\_0054.pdf](http://www.krebshilfe.de/fileadmin/Inhalte/Downloads/PDFs/Blaue_Ratgeber/017_0054.pdf)
- Express (consulté en septembre 2014). Behandlungsmethoden Prostatakrebs-mutiges nichtstun. *Medizin Spezial, Express.de*, (Koeln, le 07.12.2010) Récupéré de <http://www.express.de/prostatakrebs/behandlungsmethoden-mutiges-nichtstun,4900036,4900376.html>

- Finerty, M.J., Bingham, J., Hartley, J.A. et Shipman, M. (2009). Azinomycin bisepoxides containing rigid aromatic linkers: synthesis, cytotoxicity and DNA interstrand cross-linking activity. *Tetrahedron Lett.*, 50(26), 3648-3650.
- Fong, M. K., Hare, R. et Jarkowski, A. (2012). A new era for castrate resistant prostate cancer: A treatment review and update. *J. Oncol. Pharm. Practice*, 18(3), 343-354.
- Gao, W., Kim, J. et Dalton, J.T. (2006). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of nonsteroidal androgen receptor ligands. *Pharm. Res.*, 23(8), 1641-1658.
- Gelmann, E.P. (2002). Molecular biology of the androgen receptor. *J. Clin. Oncol.*, 20(13), 3001-3015.
- Gillatt, D. (2006). Antiandrogen treatments in locally advanced prostate cancer: are they all the same? *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 132 (Suppl. 1), 17-26.
- Haendler, B. et Cleve, A. (2011). Recent developments in antiandrogens and selective androgen receptor modulators. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 352, 79-91.
- Hamilton, P.L. et Arya, D.P. (2012). Natural product DNA major groove binders. *Nat. Prod. Rep.*, 2, 134-143.
- Howard, I. (2012). Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *New Engl. J. Med.*, 367, 1187-1197.
- Isaacs, J.T. (1994). Role of androgens in prostatic cancer. *Vitam. Horm.*, 49, 433-502.
- Janosek, J., Hilscherova, K., Blaha, L. et Holoubek, I. (2006). Environmental xenobiotics and nuclear receptors. *Toxicol. In vitro*, 20(1), 18-37.
- Langguth, P., Buch, K., Peters, T., Nawroth, T., Sanger, M. et Schmidberger, H. (2012). Determination of cell survival after irradiation via clonogenic assay versus multiple MTT assay - a comparative study. *Radiat. Oncol.*, 7, 1-2.
- Lee, J.C., Strobel, G.A., Lobovsky, E. et Clardy, J.J. (1996). Torreyanic acid: a selectively cytotoxic quinone dimer from the endophytic fungus *Pestalotiopsis microspore*. *J. Org. Chem.*, 61, 3232-3233.



- LePla, R.C., Landreau, C.A., Shipman, M., Hartley, J.A. et Jones, G.D. (2005). Azinomycin inspired bisepoxides: influence of linker structure on in-vitro-cytotoxicity and DNA interstrand cross-linking. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 15(11), 2861-2864.
- Litvinov, I.V., De Marzo, A.M., et Isaacs, J.T. (2003). Is the achilles' heel for prostate cancer therapy a gain of function in androgen receptor signaling?. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 2972-2982.
- Martin, P.M., Tostain, J. et Rossi, D. (2004). Physiologie des androgènes chez l'homme adulte. *Progrès en Urologie*, 14, 639-660.
- Morin, N. (2012). Synthèse chimique et activité biologique d'une série de dérivés amides en position 7 $\alpha$  de la testostérone. *Mémoire de maîtrise, Trois-Rivières, Université du Québec à Montréal, QC*, 93 p.
- Mossman, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.*, 65(1-2), 55-63.
- Nahar, L. et Sarker, S. (2012). *Steroid dimers - Chemistry and applications in drug design and delivery*. Wiley, ISBN : 978-0-470-74657-8, 440 p.
- Omlin, A. (2010). Cancer de la prostate métastatique - options thérapeutiques après hormonothérapie. *Forum Med. Suisse*, 10(28-29), 483-485.
- Pham, H. et Ziboh, V.A. (2002). 5 $\alpha$ -Reductase-catalyzed conversion of testosterone to dihydrotestosterone is increased in prostatic adenocarcinoma cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 82(4-5), 393-400.
- Rennie, P.S., Lallous, N., Dalal, K. et Cherkasov, A. (2013). Targeting alternative sites on the androgen receptor to treat castration-resistant prostate cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 12496-12519.
- Röpke, A., Allhoff, E.P. et Wieacker, P.F. (2004). Mutationen des Androgenrezeptor-Gens als mögliche Ursache der Antiandrogenresistenz beim Prostatakarzinom. *J. Reprod.-med. Endokrinol.*, 1(3), 194-201.
- Sakurai, H. et Hosomi, A. (1976). Syntheses of  $\gamma,\delta$ -unsaturated alcohols from allylsilanes and carbonyl compounds in the presence of titanium tetrachloride. *Tetrahedron Lett.*, 17(16), 1295-1296.

- Schindler, J.F. (2007). Warum hat Dihydrotestosteron stärkere androgene Potenz als Testosteron? *Andrologen-info*, 5.Jahrgang (12), p. 175-176. Récupéré de <http://www.andrologen.info>
- Singh, S.M., Gauthier, S., et Labrie, F. (2000). Androgen receptor antagonists (antiandrogens): structure-activity relationships. *Curr. Med. Chem.*, 7, 211-247.
- Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J.T., Bokesch, H., Kenney, S., et Boyd, M.R. (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Nat. Cancer Inst.*, 82(13), 1107-1112.
- Société canadienne du cancer (consulté en septembre 2014). Statistiques canadiennes sur le cancer. *Société canadienne du cancer*. Récupéré de <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-101/canadian-cancer-statistics>
- Steglich, W. et Neises, B. (1978). Simple method for the esterification of carboxylic acids. *Angew. Chem.*, 17(7), 522-524.
- Still, W.C., Kahn, M. et Mitra, A. (1978). Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. *J. Org. Chem.*, 43(14), 2923-2925.
- Thrasher, J.B. et Valk, W.L. (2004). Should men with serum PSA levels of 4.0 ng/mL or less undergo a prostate biopsy? *Nat. Clin. Pract. Urol.*, 1(1).
- Tilky, D. et Evans, C.P. (2014). The changing landscape of advanced and castration resistant prostate cancer: latest science and revised definitions. *Can. J. Urol.*, 21 (Suppl 1), 7-13.
- Vigier, S. (2006). *Le principe de la régulation physiologique de l'axe gonadotrope mâle*. Récupéré de [http://svt.ac-dijon.fr/schemassvt/article.php3?id\\_article=741](http://svt.ac-dijon.fr/schemassvt/article.php3?id_article=741)
- Voloshchuk, T., Farina, N.S., Wauchope, O.R., Kiprowska, M., Haberfield, P. et Greer, A.J. (2004). Molecular bilateral symmetry of natural products: prediction of selectivity of dimeric molecules by density functional theory and semiempirical calculations. *J. Nat. Prod.*, 67(7), 1141-1146.
- Zerbib, M., Boccon-Gibod, L., Davin, J.-L., Coulange, C., Culine, S., Coloby, P., Soulié, M. et Richaud, P. (2010). Les nouvelles perspectives de prise en charge du cancer de la prostate. *Prog. Urol.*, 20(7), 491-497.